34e ANNÉE JUILLET 1920 N° 7

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ÉTAT ORGANISÉ DES COLONIES BACTÉRIENNES

par René LEGROUX et J. MAGROU.

(Avec les planches II à XII.)

Depuis plusieurs années l'examen attentif des collections microbiennes de l'Institut Pasteur nous montre, pour quelques bactéries, des modifications fréquentes de l'aspect macroscopique des colonies ; la plus caractéristique est celle du vibrion cholérique.

La colonie habituelle de ce germe sur gélose sèche, ensemencée d'après notre technique (1), est, après quarante-huit heures, opaque, d'aspect humide, légèrement bombée, homogène, un peu irisée ; après huit jours à température moyenne, 16° à 18°, elle prend une teinte jaune chamois, son contour est toujours circulaire, et, après un à deux mois, la couleur tend vers le jaune saumoné. Jamais, par suite de son accroissement, la colonie n'atteint, dans ces conditions, les parois du tube de verre (de 17 millimètres de diamètre).

Les modifications, lorsqu'elles surviennent, apparaissent entre le deuxième et quatrième jour après l'ensemencement, sous la forme de taches visibles par transparence dans l'inté-

(1) Cette technique sera décrite ultérieurement

rieur de la couche microbienne homogène (fig. 1); ces taches sont arrondies, d'un blanc laiteux, et, après quarante-huit heures, semblent se tasser les unes sur les autres avant de devenir confluentes. La surface de la culture se modifie à ce moment : primitivement lisse et d'apparence humide, elle prend au niveau des taches laiteuses un aspect mat, et, après quatre à six jours, elle semble parsemée d'îlots légèrement surbaissés ou de plages plus ou moins étendues suivant la confluence des taches primitives (fig. 2 et 3); l'examen à la loupe montre que l'aspect dépoli provient d'un grand nombre de légers plissements de la surface de la colonie. La croissance modifie peu à peu cet aspect : pendant un mois environ les plissements s'accroissent en hauteur, deviennent plus nombreux, se ramifient et s'anastomosent en tous sens, donnant à la colonie un aspect cérébroïde, ou floconneux, parfois madréporique (fig. 4, 5, 6) (1). Après deux mois ces plissements prennent la teinte saumonée spéciale aux anciennes cultures de vibrion cholérique.

Beaucoup de colonies bactériennes présentent, secondairement à leur développement primitif, des cultures superposées comparables, pourrait-on penser, aux formations que nous signalons; mais ces sortes de colonies-filles, de « surcultures », sont du même type que la colonie sous-jacente; dans les formations plissées, au contraire, le type second est tout à fait différent du type habituel, au point que les premières observations du phénomène ont été considérées comme une contamination par un germe étranger, et les tubes étaient rejetés sans examen; l'observation répétée dans le cours des années nous a conduit à repousser cette hypothèse. Des séparations, des isolements après dilution, ont été faits à de nombreuses reprises, et néanmoins la modification continuait d'apparaître, toujours sur un petit nombre des tubes ensemencés (2 à 3 sur 20). Nous avons aussi envisagé la possibilité d'une association avec un germe filtrable : de nombreuses filtrations des cultures ont été faites sur bougie Chamberland F (L2 et L3), et jamais le filtrat mélangé à des cultures vibrionniennes n'a provoqué un pourcentage ultérieur plus grand des modifications; du reste ces

(1) La figure 6 est une vue stéréoscopique.

modifications peuvent apparaître en plages radiées comme se présentent des caractères normaux pour d'autres bactéries (production de pigment notamment); cette disposition, bien connue en bactériologie, donne aux colonies un aspect « panaché ». Nous obtenons aujourd'hui les colonies plissées en grande proportion, 80 p. 100 des repiquages, à la condition de prendre pour semence une colonie dont les plissements sont formés depuis six à dix jours; et pour milieu des géloses récemment inclinées dans des tubes à essai de diamètre moyen, 17 millimètres de diamètre, enfin de maintenir les tubes debout, non horizontaux.

* * *

Technique. — L'émulsion des colonies plissées, examinée au microscope après coloration soit par les méthodes habituelles, soit par les techniques spéciales (mordançage, imprégnation argentique), ne montre pas d'autres éléments que les formes communes aux cultures âgées de vibrion cholérique : vibrions à 3 ou 4 ondulations, formes globuleuses grandes et petites, vibrions courts en faible proportion. Ce mode d'examen ne nous ayant pas fourni de renseignements, nous avons eu recours à la méthode des *coupes histologiques*.

La colonie à étudier est prélevée avec une tranche mince de la gélose sous-jacente, et placée dans un liquide fixateur. Après plusieurs essais nous nous servons d'un mélange par parties égales de formol du commerce et d'alcool à 80°; nous évitons ainsi, le plus possible, les modifications que produisent la plupart des fixateurs habituels; vingt-quatre heures avant cette fixation, nous déposons sur le coton du tube de culture quelques gouttes de formol, le tube est ensuite recapuchonné. Au sortir du fixateur la pièce déshydratée est incluse à la paraffine. Toutes les opérations de changement de liquide s'opèrent sans toucher aux colonies : nous plaçons les pièces dans des cupules d'étain percées dans leur fond de multiples petits trous; à travers cette passoire les liquides s'écoulent, et la colonie, toujours dans sa cupule, est transportée dans les bains successifs. Les colonies sont, en général, débitées en coupes transversales au 1/300, au 1/500, parfois au 1/1.000 de millimètre. Les coupes sont collées sur lame au moyen d'eau gélatinée ou de colle à

l'albumine ; après dissolution de la paraffine, la lame est lavée à l'alcool *méthylique*, puis transportée face en dessus dans une boîte Laveran-Mesnil. Pour toutes nos colorations nous avons composé, après essais, la formule suivante (produits R. A. L.) :

Eosinate de bleu de méthylène	7 grammes.
Eosinate de bleu de toluidine	1 gr. 5
Bleu de toluidine	0 gr. 5
Alcool méthylique à 99°5	490 cent. cubes.

Dès que la lame est dans la boîte on couvre la coupe avec 1 cent. cube du mélange colorant ; après une minute on verse 4 cent. cubes d'eau distillée neutralisée au rouge neutre, puis on retourne la lame après mélange ; laisser agir dix à quinze minutes ; laver à l'eau ordinaire, différencier avec une solution de tannin orange R. A. L. au 1/4 dans l'eau distillée neutralisée ; suivant l'épaisseur de la coupe le temps de cette différenciation variera, elle est terminée lorsque le substratum gélose a pris une teinte bleue. Déshydrater à l'alcool *éthylique*, passer au toluène, monter à l'huile de cèdre.

*
* *

Aspect des coupes. — Nous allons décrire l'aspect microscopique des coupes pratiquées dans une colonie plissée jeune, puis nous tenterons de reconstituer une partie des stades successifs qui aboutissent à la formation la plus complexe que nous ayons observée jusqu'à présent.

L'étude des récents plissements d'âge différent peut s'entreprendre par la coupe d'une seule colonie de douze jours développée sur la partie inférieure d'une gélose inclinée en tube ; l'ensemencement a été fait par dépôt punctiforme d'une trace de culture à 2 centimètres au-dessus de l'eau de condensation. Si nous envisageons sur cette colonie de douze jours des tranches parallèles, nous pouvons ainsi délimiter des formations plissées d'âge différent (fig. 7). La figure nous montre en A l'absence complète de replis de surface ; en B les replis sont à peine marqués, ils datent de trois à quatre jours ; en C ils sont anastomosés et datent de cinq à six jours ; enfin en D nous avons des plissements plus anciens, sept à dix jours. La figure 8 nous

présente l'ensemble microscopique de la coupe des différentes tranches de cette colonie.

Nous avons vu que la transformation plissée se produit après l'apparition de taches blanches dans l'intérieur de la culture jeune; ces taches sont déjà le résultat d'une première transformation que l'examen macroscopique ne nous permet pas de saisir; nous allons en effet voir dès maintenant qu'une modification microscopique précède l'apparition des replis.

La coupe qui intéresse la partie A de la figure 7, partie sans plissements visibles, présente au faible grossissement deux couches nettement distinctes : une couche interne, basale, du côté gélose; une couche externe, en bordure superficielle (fig. 8). La couche interne est formée de deux zones visibles déjà au faible grossissement; à l'immersion (fig. 10), la zone directement en contact avec la gélose est de couleur lilas clair, réaction colorante neutre, elle est formée d'une assise de 10 à 12 éléments globulaires de 1/2 μ environ de diamètre; la deuxième zone, au-dessus de la première, de même épaisseur, est aussi composée d'éléments arrondis, juxtaposés, mais de couleur rose éosine, réaction acide; à la limite de ces deux couches et parfois au milieu de la couche éosinophile on remarque quelques taches amorphes, bleu azur, allongées, avec des prolongements ténus (fig. 10 A). La couche externe, mince, semble à faible grossissement plus différenciée que la couche interne : de coloration foncée bleu violet, elle présente un aspect pectiné, dû à la présence de points violets dans une substance homogène bleu azur. A l'immersion on voit que ces points, de réaction colorante basique, sont formés par l'accolement de 20 à 30 bâtonnets plus ou moins flexueux, parallèles entre eux, rangés perpendiculairement à la surface de la colonie; ils ont les dimensions et l'aspect de vibrions cholériques normaux; la substance azurophile qui les contient est divisée en alvéoles dont les cloisons de séparation pénètrent dans la zone intermédiaire éosinophile, soit par un ou deux prolongements ténus, soit par de petites masses sans limites précises (fig. 10 B B), mais faciles à voir grâce à leur réaction bleue qui contraste avec celle de la couche éosinophile sous-jacente. Du côté externe les bâtonnets n'affleurent pas la surface de la colonie, une cuticule azurophile coiffe toujours les paquets (fig. 10 C). Si la coupe tranche obli-

quement ou transversalement ces bandes azurophiles bacillifères, on voit que l'aspect alvéolé présente en plan une disposition en damier, en nid d'abeilles (fig. 12 B et 28 D), les bacilles de chaque alvéole apparaissent alors en paquets circulaires de points basophiles.

Si la coupe intéresse la bande B de la figure 7, où l'examen macroscopique montre des plissements onduleux non ramifiés, l'aspect microscopique est semblable à celui de la bande A, mais la couche externe présente des sinuosités onduleuses (fig. 8 B), il s'ensuit que la zone intermédiaire de la couche interne n'a plus une épaisseur uniforme.

Lorsque la coupe est pratiquée au niveau de la tranche C de la figure 7 où les plissements sont ramifiés sans enchevêtrement (culture d'environ huit jours), la même disposition en couche interne et externe existe avec quelques aspects nouveaux : la partie superficielle de la colonie est entaillée par de profondes dépressions résultant de la croissance en hauteur des plissements; la membrane bordante a toujours son aspect pectiné, mais dans la zone intermédiaire on aperçoit de longs tractus azurophiles allongés dans le sens de l'axe du prolongement; ils semblent provenir de la couche externe comme en émanaient précédemment les radicules des parois alvéolaires (fig. 11).

Lorsque la coupe passe en D de la figure 7, portion qui non seulement est au voisinage de la partie humide de la gélose, mais aussi est la plus âgée (dix jours), l'examen microscopique montre un aspect nouveau ne ressemblant pas à première vue à celui des trois précédentes coupes (fig. 8 D). La colonie trois à quatre fois plus épaisse présente une couche externe à petites ondulations, mais au milieu de la couche interne se remarquent des cavités plus ou moins arrondies (fig. 12 A), bordées régulièrement par une zone azurophile pectinée analogue à la couche superficielle; ces cavités sont au centre de la coupe comme des « lumières », et donnent un aspect vacuolé à l'ensemble de la préparation. On remarque que parfois deux cavités communiquent entre elles par un canal plus ou moins étroit (fig. 12 B) limité par une bordure semblable à celle qui encercle la cavité (dans cette figure la coupe passe par le plan oblique d'une des deux lumières et présente l'aspect en nid d'abeilles). Fréquemment les canaux d'union deviennent virtuels

par accolement de leurs parois, en pareil cas les paquets de bacilles bordants sont plus rares ou même manquent totalement (fig. 12 C). Le canal est alors réduit à son stroma azurophile et l'affrontement des deux bords apparaît comme un trait net fortement coloré. Ainsi que dans la coupe précédente on voit, dans la couche de globules éosinophiles, de nombreuses plages de substance azurophile constituant alors un ciment, une véritable substance interstitielle, qui relie les éléments en bordure avec la couche interne vacuolée et soutient les globules éosinophiles. Cette substance interstitielle semble provenir pour sa plus grande part de la couche externe, au moment de la croissance des replis et de leur soudure lors de la formation des cavités.

*
* *

Mécanisme de formation des cavités. — Nous avons pu reconnaître le mode de formation de ces cavités d'aspect vacuolaire sur des coupes en séries suivies, dans une colonie différenciée depuis un mois et dont le développement n'avait pas été très rapide.

Nous voyons deux plissements voisins l'un de l'autre (fig. 13) se rapprocher, puis, venus en contact par un point, se fusionner (fig. 14). A ce stade une modification se produit dans la bande de substance interstitielle d'accolement (fig. 14 A) qui renferme les bactéries, celles-ci ne se présentent plus en paquets de bacilles parallèles entre eux, mais en amas sans ordre déterminé qui, par la désagrégation des faisceaux, semblent aboutir à la mise en liberté des microbes. Un stade plus avancé montre le pont de fusionnement augmenté d'épaisseur, formé en grande partie par la substance interstitielle (fig. 15) au milieu de laquelle des granulations basophiles représentent les bacilles primitivement renfermés dans les surfaces accolées. Mais à ce moment une partie des microbes se place en ordre parallèle, d'une part dans la substance interstitielle de la couche externe, d'autre part dans la portion qui délimite la vacuole au point de jonction des plissements accolés. Plus loin dans la série des coupes les deux bordures bacillifères sont constituées; la zone bordante externe est séparée de la couche intermédiaire éosine et une ligne bleu azur, reliquat de la soudure, indique seule le

phénomène précédent; le pont qui sépare la cavité de la couche externe présente les mêmes dispositions que l'intérieur des deux replis avant leur soudure, la substance azurophile s'y montre en lacs de forme irrégulière, les globules n'ont plus tous la réaction basique, beaucoup sont éosinophiles (fig. 16). Quelques coupes plus loin, la cavité prend le type arrondi, la dépression de surface a disparu, et l'on ne remarque plus entre la cavité et la superficie de la colonie que des globules roses soutenus par des bandes de substance interstitielle.

La suite de ces coupes fait comprendre comment se forment les « vacuoles » dans l'intérieur des colonies différenciées; elles représentent la coupe transversale médiane d'un tunnel formé par deux plissements parallèles qui, pendant leur accroissement en hauteur, se sont soudés après affrontement de leur partie supérieure (fig. 9). Les replis continuent à se former au-dessus de cette soudure, il s'en produit de même latéralement, et chacun aboutissant après soudure avec son voisin à une formation en tunnel, la coupe d'une semblable colonie présente un aspect organisé remarquable.

*
* *

Si les conditions favorables au plissement ont persisté, sans heurts du tube, avec un milieu nutritif et une atmosphère convenables, la croissance plissée se continue pendant plusieurs mois; on obtient alors une masse coloniale circulaire, épaisse d'un millimètre et demi environ, d'aspect floconneux, blanche (fig. 4). Une coupe transversale de cette colonie présente un ensemble des plus curieux. Au faible grossissement (fig. 17) l'aspect surprend quand on se souvient qu'il s'agit d'une colonie bactérienne, puisque à première vue on a l'impression d'un organe glandulaire, illusion qu'un examen quelque peu attentif suffit à dissiper. Avec un plus fort grossissement, nous retrouvons les aspects que nous venons de décrire (fig. 18) : cavités vacuolaires, bordures pectinées, lacs de substance interstitielle, amas denses de globules éosinophiles; mais d'autres parties de la coupe se présentent avec une apparence nouvelle que nous n'avons pu voir sur les formations jeunes déjà décrites. N'étions-nous pas en présence d'un arrêt de développement au cours de l'accroissement en hauteur de l'édifice organisé, ou d'une dégé-

nérescence, par vieillissement, des premiers éléments de la colonie différenciée?

*
* *

Arrêts du plissement. — Nous avons cherché comment se produisaient ces modifications de « structure » et avons pu déterminer qu'elles étaient comparables à celles des arrêts du développement des formations plissées, arrêts que nous qualifions de processus d'avortement. L'avortement, d'après nos expériences, peut tenir à un excès d'humidification ou au contraire à un certain degré de sécheresse des milieux de culture : d'où deux types différents qui peuvent d'ailleurs se combiner ou se juxtaposer dans les colonies anciennes. Nous allons décrire sommairement les deux processus.

Par suite d'un excès d'humidité (condensation sur les parois du tube, projection d'une petite quantité d'eau, etc.), le plissement semble disparaître, il se recouvre d'un enduit bactérien homogène, et rapidement, à lumière directe, la colonie est en tous points semblable à la colonie habituelle du vibrion cholérique; cependant, par transparence, cette colonie présente en son centre une zone opaque, chagrinée, reliquat du plissement primitif qui fut recouvert par la nouvelle poussée bactérienne; il y a, de par l'excès d'humidité, arrêt de développement différencié.

Par défaut d'humidité (tube décapuchonné, milieu primitivement peu humide, etc.), la gélose se dessèche lentement, le plissement des colonies déjà marqué semble s'affaisser, les anfractuosités disparaissent, et la surface reste mate sans dénivellements; ici encore il y a, mais par sécheresse, arrêt du développement, cette fois sans enrobage secondaire par une surculture du type habituel.

Ces arrêts peuvent survenir, dans les deux cas, au début du plissement ou après un certain développement des replis.

Les coupes pratiquées dans des colonies plissées « avortées » présentent des aspects différents, suivant que l'excès ou le défaut d'humidité est en cause.

a) La mise dans le fixateur des colonies plissées recouvertes secondairement, à la suite d'un excès d'humidité, provoque l'émulsion très rapide de la surculture; il ne reste sur la tranche

de gélose que le noyau primitivement plissé ainsi que, autour de lui, les formations coloniales normales *contemporaines du plissement*, ce qui nous autorise une seconde fois (fig. 10) à penser que le déterminisme de la formation des replis doit précéder l'apparition des taches laiteuses dans la colonie.

Une coupe passant par le diamètre d'une colonie ainsi avortée montre à faible grossissement une partie centrale encastrée dans l'ensemble de la formation (fig. 18 et 19). Envisageons le détail de la coupe de cette colonie, de sa partie inférieure côté gélose jusqu'à sa superficie. La surface de la gélose sur laquelle s'est développée la colonie est parsemée de petits amas violets enfoncés de 2 ou 3 μ dans le milieu (fig. 18 A); ils sont composés de bacilles plus ou moins incurvés, et de formes globuleuses de 1/4 à 1/2 μ environ, intensément colorés (coloration basique); ces formes sont comparables aux transformations globuleuses du vibrion cholérique lors du phénomène de Pfeiffer. Cette association de bacilles et globules se rencontrera, avec prédominance tantôt des bacilles, tantôt des globules, dans les différentes couches des colonies plissées. La partie de la colonie en contact avec la gélose, partie linéaire de 6 μ environ d'épaisseur (fig. 18 B), de coloration violette, est composée en majeure partie d'éléments microbiens où dominent les formes globuleuses; au-dessus de cette couche mince se trouve une bande plus épaisse (fig. 18 C) composée de formes arrondies peu colorées comme celles rencontrées dans les cultures âgées de vibrion cholérique; au milieu de cette couche sont placés de petits amas microbiens, bacilles et globules basophiles. La couche superficielle est uniquement composée par des formes microbiennes bien colorées (fig. 18 D) où les bacilles prédominent et sont le plus souvent orientés perpendiculairement à la coupe transversale. Malgré que ces différentes couches ne se soient pas émulsionnées dans le fixateur, la coloration n'y décèle pas de substance interstitielle.

Le noyau central (fig. 19 E) est séparé par une limite très nette du reste de la coupe; il y tranche par sa coloration foncée de teinte violet et azur. Ce centre occupe la place de la couche superficielle où dominent les formes bacillaires, il est logé dans la colonie comme une tête de vis dans un trou fraisé. On lui distingne deux zones: une profonde séparée de la couche

moyenne de la colonie par une ligne bleu azur, zone parsemée de paquets microbiens où dominent les formes globuleuses; une superficielle plus ou moins onduleuse composée d'un feutrage de bacilles très colorés. La charpente de cette portion centrale est constituée par un lacis de filaments de substance interstitielle; les dépressions externes délimitées par les saillies de la ligne onduleuse sont de même remplies de substance azurophile; au-dessus, vers la partie externe, se remarquent de fines bandes sans différenciation, composées de formes bacillaires, débris de la surculture qui fut émulsionnée dans le liquide fixateur.

Si la surculture se produit sur un plissement plus ancien, le bouton central, au lieu de posséder seulement une zone ondulée, présente une épaisseur plus grande et surtout des cavités dont la bordure est composée d'un feutrage microbien analogue à celui de la bande ondulée de la coupe précédente; on remarque aussi l'abondance plus grande de la substance interstitielle (fig. 20) étirée en minces filaments perpendiculaires à la surface de la colonie.

b) Dans le cas d'avortement par dessiccation on peut rencontrer deux types macroscopiques. Dans l'un, le plissement débute en intéressant toute la superficie de la colonie, et l'arrêt aboutit à l'aspect mat de la surface; dans l'autre le plissement, limité à certains points, continue à s'accroître en hauteur sans enchevêtrement des plis, formant alors des efflorescences en « choux-fleur » qui ne gagnent pas en largeur sur la colonie de type habituel (fig. 2, 3 et 5).

Les coupes des colonies qui ont subi une dessiccation présentent un aspect très particulier, surtout lorsque le plissement intéresse à son début toute la surface. Dans ce type, où le *tassement* semble jouer le principal rôle, la substance interstitielle se présente en longues bandes plus ou moins épaisses, plus ou moins abondantes. Les coupes ont un aspect général stratifié, dû à la présence de bandes azurophiles qui enserrent les masses microbiennes de tous âges. La compression des différentes parties de ces colonies leur donne une affinité colorante plus grande : les parties basophiles sont pourpre, lie de vin, les bandes azur sont d'un bleu très foncé.

Dans le cas de tassement récent les lignes de substance

interstitielle sont assez larges (5 à 6 μ) et situées vers la base de la colonie (fig. 21). Si le tassement s'est fait depuis un temps plus long, sur une colonie peu plissée primitivement, les lignes sont moins épaisses, plus colorables, moins abondantes (fig. 22); parallèles au grand axe de la colonie dans sa partie basale, elles sont perpendiculaires du côté périphérique où elles enserrent entre leurs trabécules des territoires microbiens de coloration pourpre. Si le tassement a lieu sur un plissement déjà compliqué et depuis au moins un mois, la coupe transversale présente un aspect zébré très spécial (fig. 23) dû à l'abondance des couches de substance interstitielle, couches serrées à la partie basale de la colonie, un peu moins nombreuses vers la périphérie, où encore dans ce cas elles délimitent les zones pourpres d'éléments microbiens. Sur une colonie de ce dernier type, la coupe horizontale par rapport au plan du milieu nutritif montre le même aspect zébré (fig. 24) ce qui nous permet de comprendre quelle armature considérable, en tous sens, forme la substance interstitielle de ces colonies bactériennes.

Dans toutes ces coupes de colonies plissées arrêtées dans leur développement par dessiccation, si les bandes de substance azurophile sont bien colorées, on peut voir, par l'examen à l'immersion, surtout avec un écran rose sous l'éclairage Abbe, une disposition striée de leur intérieur. Au très fort grossissement (ocul. comp. 12 obj. 1/15), avec un puissant éclairage, on voit des fibrilles, bleu azur, parallèles entre elles, perpendiculaires à l'axe de la bande (fig. 25). L'aspect fibrillé peut dans le cas d'une plus grande dessiccation des colonies se présenter sous la forme d'un réseau de mailles (fig. 26). Nous devons rapprocher cet aspect de la disposition alvéolée de la bande externe pectinée dans les colonies jeunes (fig. 10, 11, 12). On remarque en A de la fig. 25 deux formes globuleuses bien colorées, et en B deux petits amas de bacilles et globules.

*
* *

Nous sommes en mesure de lire plus aisément la coupe de la colonie dont le développement s'est continué pendant deux

mois avec le type plissé : pour la commodité de l'étude de cette coupe (fig. 28) on peut la diviser en quatre zones :

Zone A. Partie en contact avec la gélose, dont la limite inférieure contient des paquets de globules et quelques bacilles basophiles; le reste de cette zone est formé par un agglomérat de globules éosinophiles avec quelques travées de substance interstitielle.

Zone B. Séparée de la précédente par des vacuoles dont le contour azurophile, vidé de bactéries, présente l'aspect fibrillé; cette zone est caractérisée par des paquets en houppes denses de formes bactériennes, groupées au niveau d'anciennes vacuoles dont le centre est parfois rempli d'une agglomération de globules éosinophiles; entre ces houppes, des lacs de substance interstitielle semblent cimenter les masses éosinophiles.

Zone C. Zone vacuolée, mais où les vacuoles sont le plus souvent déformées par un tassement, et où les paquets de bacilles des margelles sont clairsemés.

Zone D. Superficielle, dont les vacuoles ont leur périphérie nettement pectinée; entre elles des lacs de substance interstitielle très colorée et des amas éosinophiles; à la surface les replis en « villosités ».

*
* *

Toutes les coupes que nous venons de décrire sont pratiquées dans des colonies de vibrion cholérique. On pouvait penser que le plissement qui différencie à tel point une agglomération de bactéries était particulier au microbe du choléra. L'examen répété des différentes souches de la collection microbienne de l'Institut Pasteur nous a permis de retrouver des modifications macroscopiques des colonies, chez plusieurs autres espèces bactériennes : bacille de la psittacose, autres races de paratyphiques A et B, bacillus fæcalis alcaligenes. Chaque colonie modifiée macroscopiquement a été préparée pour l'inclusion à la paraffine; on pouvait observer d'abord qu'elle ne s'émulsionnait pas dans les liquides. Dans tous les cas, nous avons pu mettre en évidence des zones de substance interstitielle, se présentant en général, comme celles que nous

avons décrites dans le processus d'arrêt de développement par sécheresse, du reste les colonies dont il s'agit avaient un aspect mat, parfois ondulé.

Le plissement cérébroïde de nos colonies de vibrion cholérique rappelle les plissements caractéristiques de certaines cultures bactériennes, bacille tuberculeux, notamment; des coupes pratiquées dans ces cultures nous ont permis d'y reconnaître la présence de substance interstitielle; mais le procédé d'inclusion à la paraffine ne semble pas favorable au maintien du ciment des cultures de bacille tuberculeux, probablement à cause de sa constitution cireuse. Le simple étalement sur lame d'une émulsion bactérienne de colonie plissée du vibrion cholérique (fixé à l'alcool méthylique, lavé au toluène) nous montre, après coloration, des fragments de substance azurophile avec ses alvéoles ou ses fibrilles suivant les cas; or, l'étalement des cultures de bacille tuberculeux, traité de la même manière, montre en abondance cette substance, dont nous retrouvons seulement quelques bandes sur les coupes; on peut cependant observer que ces bandes se trouvent dans les espaces dépourvus de bacilles, dont les amas sont orientés de telle façon qu'ils semblent privés du soutien de la charpente qui avait dû déterminer leur disposition.

* * *

Les édifices si complexes des colonies plissées naissent, théoriquement, d'un corps bactérien d'une seule espèce, sans symbiose, autant du moins que la technique nous permet de l'affirmer. D'où peuvent provenir les différentes parties constituant cet édifice?

Examinons au fort grossissement, après coloration par notre méthode, des vibrions cholériques, des bacilles typhique, diphtérique ou tuberculeux. Nous distinguons aisément dans chaque élément deux parties colorées d'une façon différente, une en bleu azur, l'autre en violet. Si le microbe vient de se diviser, forme adulte, la partie centrale, violet, remplit la forme du bacille, il semble que la partie externe, bleu azur, soit une membrane d'enveloppe (fig. 27 A); très rapidement, en un temps variable suivant les conditions de la culture, la

masse du bacille est en bleu et au milieu de cette teinte générale nous voyons deux à quatre granulations arrondies, souvent de taille différente, de coloration violette; granulations bien connues pour les bacilles diphtérique et tuberculeux sous la dénomination de corpuscules de Neisser et de granulations de Much (fig. 27 B). Ces corpuscules « endoplasme bactérien » nous les avons vus dans la série des coupes sous la forme de granulations basophiles, puis éosinophiles. Quant au reste de la bactérie, « ectoplasme bactérien », nous pensons qu'il est l'origine de la substance interstitielle donnant aux colonies plissées leur cohésion et leur structure compliquée, organoïde. Ne peut-on admettre que les parties solubles de ce protoplasme, les extraits protoplasmiques, ne soient les véritables facteurs de l'organisation morphologique que nous avons observée?

Des recherches ultérieures permettront, sans doute, une étude plus précise du déterminisme de ces formations, ce qui pourrait ne pas être sans importance au point de vue de la morphogénie générale.

LA FLAGELLOSE DES EUPHORBES

par Carlos FRANÇA,
Naturaliste du Musée Bocage.

II (1)

(Avec les planches XIII et XIV.)

SOMMAIRE

I. — Morphologie du Flagellé dans le latex.
II. — Une question de systématique : le genre *Leptomonas*.
III. — Le transmetteur de *Leptomonas Davidi* Lafont.
1. Historique.
2. Au Portugal, le transmetteur est *Stenocephalus agilis* Scop.
Caractères de l'Hémiptère.
Mœurs.
3. *Leptomonas Davidi* dans l'organisme de l'insecte.
A. Les infections naturelles.
B. Les infections expérimentales.
4. *Stenocephalus* est l'hôte primitif du Flagellé.
IV. — L'évolution de *Leptomonas Davidi* dans les Euphorbes.
a) Accident primaire.
b) Formes parasites des fruits.
V. — La Leptomonade des Euphorbes constitue-t-elle une espèce bien définie?
VI. — Existe-t-il une connexion entre la Flagellose et certaines Zoonoses?

I. — MORPHOLOGIE DE *L. DAVIDI* (2) DANS LE LATEX

Dans le latex des Euphorbes, *L. Davidi* se présente avec des caractères qui ne varient pas avec l'espèce végétale infectée, et

(1) La partie I de ce travail a été publiée en 1914 dans les *Arch. f. Protistenkunde*, t. XXXIV, p. 108-132, planche et figures.
On y étudie *Leptomonas Davidi* (morphologie, structure, multiplication, dégénérescence, etc.) et la flagellose (symptômes, histologie pathologique, curabilité, etc.).

(2) Le point de départ de la découverte de *L. Davidi* est peu connu. Le Dr Lafont, étant à l'île Maurice, avait examiné le latex de plusieurs plantes, et notamment celui des petites Euphorbes. La diversité des formes des grains d'amidon, selon les espèces, l'avait frappé. Leur présence abondante dans le latex l'avait conduit à penser que ce pouvait être là un merveilleux milieu de culture. C'est alors qu'il a chargé l'attendant David d'examiner des

qui offrent quelques particularités, permettant de le distinguer des autres espèces de *Leptomonas*.

Sous sa forme la plus commune, c'est un parasite long et étroit (16,5 μ à 19,5 μ de long sur 1,5 μ de large). Le corps du parasite est, dans sa partie postérieure, tordu deux ou trois fois autour de son axe (pl. fig. 3) (1).

Le blépharoplaste, sphérique, est situé à 1,5 μ de l'extrémité antérieure et à 3 μ du noyau, qui est régulièrement elliptique. Ce noyau a, dans un centre (on le voit clairement dans les préparations colorées par l'hématoxyline ferrique), un caryosome sphérique.

Le flagelle, mince et ayant partout la même épaisseur, mesure de 14,5 à 16,5 μ et prend naissance directement sur le blépharoplaste. On ne voit jamais de rhizoplaste.

Outre ces formes hélicoïdales élancées, on en trouve de plus trapues, ne présentant pas la torsion presque constante chez les premières.

On observe aussi des formes rondes ou ovalaires, aflagellées, identiques à celles qu'on a appelé les formes préflagellées des *Herpetomonas*.

Dans le tableau suivant, nous donnons en μ les mensurations de *Leptomonas Davidi* (exemplaires africains, portugais et ita-

Dimensions en μ de *Leptomonas Davidi*.

	LAFONT	MESNIL	FRANÇA	VISENTINI
Flagelle	10 à 12	10 à 15	10,5 à 16	12,5
Corps, longueur	18,5	20	16,5 à 19,5	21,1
— largeur	1,6	2	1,5	1,5
Blépharoplaste à extrémité antér.	»	»	1,5	1,5
— à noyau	»	»	3	3,2
Noyau	»	»	2 à 3	2,7
— à extrémité postérieure.	»	»	10,5 à 12	13

centaines d'Euphorbes et de lui signaler s'il y rencontrait quelque chose de mobile. David a trouvé ainsi *Leptomonas* chez *Euphorbia pilulifera*.

(Lettre du Dr Lafont du 21 mai 1914.)

(1) Ed. Chatton a trouvé des flagellés hélicoïdaux dans les cultures d'une leptomonade de *Ctenocephalus serraticeps*, var. *canis* (*Bull. Soc. Path. exotique*, juin 1919). Chatton insiste sur la rareté des formes en torsade chez les *Leptomonas* des insectes.

liens) (1), formes flagellées et aciculées, les plus communes.

La seule forme de multiplication que *Leptomonas Davidi* présente dans le latex est, comme nous l'avons dit dans la première partie de ce travail, la division longitudinale.

Le parasite devient piriforme, allongé; par élargissement considérable de sa partie antérieure, le blépharoplaste s'allonge et prend la forme d'un bâtonnet perpendiculaire à l'axe du parasite.

Le nouveau flagelle, plus grêle que l'ancien, fait alors son apparition. Il prend naissance à l'extrémité du blépharoplaste opposée à celle d'où sort le flagelle primitif.

Dans les préparations colorées par l'hématoxyline ferrique, le blépharoplaste a la forme d'une haltère des deux boules de laquelle sortent les deux flagelles, le primitif, et celui de nouvelle formation.

Le nouveau flagelle apparaît et se développe déjà au stade de blépharoplastodesmose ; le noyau prend ensuite une position oblique par rapport à l'axe du parasite (45° d'inclinaison sur l'axe). Le pôle du noyau, tourné vers l'extrémité antérieure, est plus proche du nouveau blépharoplaste; le caryosome du noyau s'allonge ensuite, prend la forme d'une haltère et se divise ensuite. Les noyaux fils se reconstituent autour des deux caryosomes.

Chez *L. Davidi*, le noyau et le blépharoplaste se divisent par un processus de panmitose ou plus exactement de monopanmitose (nomenclature de Alexeieff, 1913).

Pendant les préparatifs du noyau pour la division, la scission du cytoplasme a déjà commencé et elle débute *toujours* par l'extrémité antérieure.

Des deux formes filles, après la séparation, l'une d'elles maintient, pendant longtemps, son noyau plus rapproché du blépharoplaste que celui de l'autre et un flagelle plus petit.

On verra, dans les pages suivantes, la raison pour laquelle j'insiste à nouveau sur la morphologie de *Leptomonas Davidi*

(1) Dans l'Europe les Euphorbes qu'on a trouvées, jusqu'à présent, parasitées par *L. Davidi* sont les suivantes :

Portugal : *E. peplus* et *E. segetalis* (C. França, 1911).

Italie septentrionale (Bologne) : *E. segetalis* (A. Visentini, 1914).

Sardaigne (Sassari) : *E. scimperiana* Hochst et *E. Cupani* Guss. (R. Monti, 1914).

dans le latex et, spécialement, sur les particularités du processus de division.

II. — UNE QUESTION DE SYSTÉMATIQUE

Le genre *Leptomonas*.

La valibilité du genre *Leptomonas* est encore l'objet d'une vive discussion, quelques auteurs pensant que c'est simplement un synonyme de *Herpetomonas*, tandis que d'autres le considèrent comme un genre à maintenir dans la classification.

Comme le parasite des Euphorbes a été considéré par quelques savants comme appartenant aux *Leptomonas*, par d'autres comme un *Herpetomonas*, et par Donovan comme l'espèce type d'un nouveau genre (*Phytomonas*), nous devons revenir sur cette question de systématique.

Le genre *Herpetomonas* a été créé en 1881, par S. Kent, pour le Flagellé parasite de l'appareil digestif de *Musca domestica* (1), parasite trouvé en 1851 par Burnett et décrit par Leidy en 1856. Dans le même ouvrage dans lequel Kent a donné la diagnose du genre *Herpetomonas*, et à la page précédente, il décrit le genre *Leptomonas* où il met une espèce trouvée par lui chez le ver nématode *Trilobus gracilis*.

Les diagnoses de Kent, basées sur l'examen d'exemplaires vivants, ne permettant pas d'établir une distinction entre les deux genres, et le parasite du *Trilobus* n'ayant pas été de nouveau étudié, la plupart des auteurs considèrent *Leptomonas* comme synonyme de *Herpetomonas*.

Ce qui a compliqué le plus la question, ce fut la description de Prowazek (1904) du Flagellé de *Musca domestica* comme un biflagellé, les deux flagelles provenant d'un diplosome.

Lühe (1906), Roubaud (1908), Chatton (1909) et Dunkerly (1911), admettant exacte l'observation de Prowazek, ont réservé, comme il était rationnel, le nom d'*Herpetomonas* pour le parasite biflagellé de *Musca domestica* et ont choisi le genre *Leptomonas* pour les formes uniflagellées.

(1) Le trypanosome du rat (*T. Lewisi*) a été provisoirement placé par Kent dans le genre *Herpetomonas*; mais le parasite de la mouche a été chois comme l'espèce type du genre.

Or, comme l'ont démontré Patton (1908) et Mackinnon (1910), et l'avait déjà figuré Léger (1903), le parasite de la mouche domestique est uniflagellé et le stade biflagellé, décrit par Prowazek, ne représente qu'une phase dans la division du Protozoaire (1).

Parmi ceux qui considèrent *Leptomonas* comme un simple synonyme de *Herpetomonas*, se trouve Patton, à qui on doit les connaissances les plus complètes sur le genre *Herpetomonas*. Dans son intéressant travail sur *Herpetomonas culicis* (1912), il dit : « These experiments conclusively proved that *Herpetomonas muscæ domesticæ* is a uniflagellate protozoon and the generic name *Leptomonas* can therefore only be a synonyme ».

Doit-on alors maintenir le genre *Leptomonas* ou, au contraire, le considérer comme synonyme de *Herpetomonas?*

Quand Chatton, en 1909, a rétabli le genre *Leptomonas*, il l'a réservé pour les formes uniflagellées et sans *rhizoplaste*. Aujourd'hui la possession de deux flagelles ne peut pas servir de base de distinction entre les deux genres, mais il nous reste à voir si la présence du rhizoplaste peut intervenir comme élément de diagnose différentielle.

Pour pouvoir résoudre cette question, nous avons étudié le parasite de la *Musca domestica* du Portugal. Cet insecte, étant largement parasité, nous a fourni un matériel très riche, nous permettant la comparaison. Nous avons ainsi pu nous convaincre que *Herpetomonas muscæ domesticæ* possède, en effet, un seul flagelle très robuste et allant en s'amincissant de la base vers l'extrémité. Ce flagelle part d'un rhizoplaste très net, à une petite distance duquel se trouve un volumineux blépharoplaste (pl. XIII, fig. *a*) (2).

La division de *H. muscæ domesticæ* étant très active, on trouve, le plus souvent, des individus en division, des individus biflagellés (pl. XIII, fig. *b*). La division est longitudinale et elle débute, d'ordinaire, par les rhizoplastes, immédiatement

(1) Mac Neal et Torrey (1907) avaient émis cette hypothèse : « On the other hand, there are reasons for believing that the double flagellar arrangement described by Prowazek represents an early division stage. »

(2) Dans les phases préflagellées de *H. culicis*, on voit nettement non seulement le blépharoplaste, mais aussi le rhizoplaste (*the flagellar myoneme* de Patton).

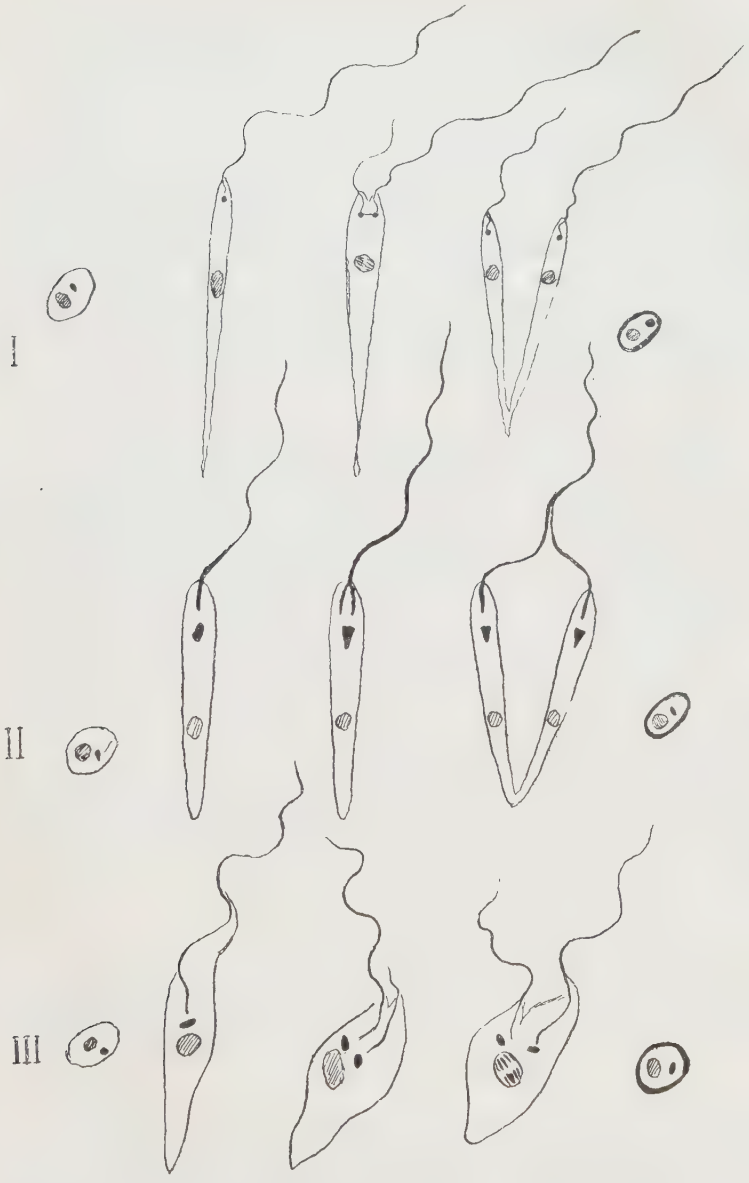


FIGURE 1.

I. Genre *Leptomonas*.
II. — *Herpetomonas*.
III. — *Crithidia*.

suivie par celle du flagelle. Tandis que, chez *Leptomonas Davidi*, le nouveau flagelle n'a rien à voir avec l'ancien, et est de nouvelle formation, chez *Herpetomonas*, il existe un dédoublement (a *splitting*) du flagelle primitif (1) (pl. XIII, fig. *b*, *c* et *d*).

Ceci explique l'interprétation erronée de Prowazek, les deux flagelles de *Herpetomonas* ayant sensiblement les mêmes dimensions déjà au début de la division, alors que le blépharoplaste et le noyau sont encore uniques (2). Nous avons même vu des exemplaires chez lesquels le dédoublement du flagelle n'est pas encore complet, de sorte qu'on voit le flagelle, déjà double à sa base, alors que, vers l'extrémité, il est encore unique.

D'après ce que nous venons de dire, il nous semble légitime d'établir, comme il suit, la diagnose des trois genres, si discutés, de Flagellés de l'appareil digestif des Invertébrés. Ces trois genres ont tous en commun l'existence de trois phases dans leur cycle évolutif : phases préflagellée, flagellée et post-flagellée. Les phases pré- et post-flagellée se distinguent, parce que cette dernière est pourvue d'une paroi kystique résistante.

Genre *Leptomonas* Kent 1881.

Protozoaires aciculés. Blépharoplaste, ordinairement petit, antérieur au noyau. Le flagelle prend naissance directement sur le blépharoplaste. La division commence par le blépharoplaste; le flagelle est de nouvelle formation.

Genre *Herpetomonas* Kent 1881.

Protozoaires aciculés. Blépharoplaste, d'ordinaire volumineux, antérieur au noyau. Le flagelle, habituellement très fort, prend naissance sur un rhizoplaste. La division commence par le rhizoplaste : d'ordinaire, dédoublement du rhizoplaste et du flagelle.

(1) La figure 36 du travail de Patton sur *H. culicis* et la figure 12 et 13 de celui sur *H. lygæi* montrent bien le processus de division caractéristique des *Herpetomonas*, dédoublement du rhizoplaste suivi de celui du flagelle.

(2) Dans une lettre, le Dr C. Strickland me disait, en 1914 : « ... I am sure the flagellum never splits, but always grows out from the blepharoplast. Careful observation will always reveal this. » Cependant, en examinant la planche du travail de Strickland sur *H. luciliæ*, on voit qu'il s'agit bien d'un *Herpetomonas* et que le mode de formation du flagelle est, comme chez les autres espèces de *Herpetomonas*, bien différent de celui des *Leptomonas*.

Genre *Crithidia* Léger 1902 (Patton *emend.* 1903).

Blépharoplaste antérieur au noyau et très rapproché de celui-ci (juxta-nucléaire). Le flagelle borde une courte membrane ondulante plus ou moins développée (1).

Évidemment, on ne sait pas aujourd'hui, puisque l'espèce type du genre *Leptomonas* n'a pas été revue, si les formes sans rhizoplaste doivent être mises dans le genre *Leptomonas* ou si on doit créer, pour elles, un nouveau genre. Ce que nous sommes sûrs, c'est qu'on doit les mettre dans un genre différent de celui auquel appartient la forme de *Musca domestica*, c'est-à-dire du genre *Herpetomonas* (2). Ce sont les raisons pour lesquelles nous croyons que le parasite des Euphorbes doit être appelé *Leptomonas Davidi*, et non *Herpetomonas Davidi* comme le veulent ceux qui ne regardent le genre *Leptomonas* que comme synonyme de *Herpetomonas*.

Dans le tableau suivant, nous avons cherché à grouper les formes décrites dans les deux genres *Herpetomonas* et *Leptomonas*. Dans cette énumération se trouvent seulement les formes dont la description, accompagnée de figures, nous a permis de vérifier les caractères génériques. C'est donc une liste très incomplète. Il y existe des formes comme *H. agilis* Chatton, que nous croyons pouvoir mettre dans le genre *Herpetomonas*. Dans cette forme, on ne voit pas un rhizoplaste en bâtonnet, mais punctiforme.

Genre Herpetomonas.

Espèce type : *H. muscæ domesticæ* Burnett 1851, par. *Musca domestica*.

Autres espèces :

H. jaculum Léger, 1902, par. *Nepa cinerea* (Hemipt.)

1) Chez *Gerris najas* Geer, du Portugal, nous avons trouvé une *Crithidia* dont la membrane ondulante est quelquefois très large et très plissée.

2) Si on arrive un jour à revoir le parasite de *Trilobus gracilis*, et si on reconnaît qu'il n'appartient pas au genre *Herpetomonas* et qu'il n'a pas les caractères des *Leptomonas* (voir diagnose précédente), il devra reprendre sa place dans ce dernier genre. Les formes comprises aujourd'hui dans le genre *Leptomonas* devront prendre alors place dans un nouveau genre.

H. culicis Novy, Mac Neal et Torrey, 1907 (1), par. *Culex pungens, sylvestris* et *triseriatus*.

H. lygæi Patton 1908, par. *Lygæus militaris* (Hemipt).

H. inhospes Donovan 1909, par. *Lygæus inhospas* (Hemipt).

H. agilis Chatton 1909, par. *Harpactor iracundus* (Hemipt).

H. sp.? Mackinnon 1900, par. *Scatophaga lutaria*, *Neuroctena anilis* et *Homalomyia sp.?*

H. luciliæ Strickland 1911, par. *Lucilia sp.?*

H. pediculi Fantham 1912, par. *Pediculus vestimenti.*

H. stratiomyæ Fantham et Porter 1913, par. *Stratiomyia chameleon* et *S. potamida.*

Genre Leptomonas (2).

Syn. { *Herpetomonas* « pro parte ».
Leishmania Ross.
Hæmocystozoon Franchini.

Espèce type : *Leptomonas drosophilæ* Chatton et Alilaire 1908, par. *Drosophila confusa.*

Autres espèces :

Leptomonas Donovani Laveran et Mesnil 1903 { *Cimex lectularius.*
Cimex rotundatus.
Homme.

Leptomonas Davidi Lafont 1909, par. { Euphorbes.
Stenocephalus agilis.
Dieuches humilis?
Nysius euphorbiæ?

L. ctenophtalmi (Mackinnon) 1909, par. *Ctenophtalmus agyrtes.*

L. pyrrhocoris (Zotta) 1912, par. *Pyrrhochoris apterus* (Hemipt).

L. serinethæ Rodhain, Pons, V. Branden et Bequaert) 1913, par. *Serinetha fraterna* (Hemipt).

L. sp.? Rodhain et collaborateurs, 1913, par. *Cletus bisliipunctactus.*

L. sp.? Rodhain et collaborateurs, 1913, par. *Serinetha amicta.*

L. sp.? Rodhain et collaborateurs, 1915, par. *Mirperus jaculus.*

L. brasiliense Franchini, 1913, par. homme (sang et foie).

(1) Sous le nom de *H. culicis* Novy et ses collaborateurs ont décrit un *Herpetomonas* et une *Crithidia*, comme on le voit nettement dans les figures e leur travail.

(2) Les *Leishmania* sont évidemment des *Leptomonas* et des *Herpetomonas* adaptées à la vie chez quelques vertébrés. Le genre *Leishmania* doit, comme l'a proposé Rogers, disparaître pour céder la place à *Leptomonas* ou à *Herpetomonas*. L'étude des formes culturales des différents *Leishmania* doit permettre leur attribution à un de ces genres.

III. — L'INSECTE TRANSMETTEUR DE *LEPTOMONAS DAVIDI*.

1. Historique.

Dès ses premiers travaux, Lafont a incriminé les Hémiptères de jouer le rôle d'agent vecteur de *L. Davidi* et, parmi les Hémiptères trouvés sur les Euphorbes à Maurice, il a spécialement accusé *Nysius euphorbiæ* Horvath, puisque cette espèce a été celle qu'il a trouvée parasitée.

Bouet et Roubaud, au Dahomey, ayant trouvé 1 sur 20 *Dieuches humilis* fortement parasités, et ayant pu infecter une *E. pilulifera* en employant un grand nombre d'Hémiptères, ont assuré que cet Hémiptère est l'agent d'infection des Euphorbes. Rodhain et Bequaert, qui ont trouvé au Congo *Euphorbia indica* (1) largement parasitée par *Leptomonas*, ont capturé sur cette plante un certain nombre d'espèces d'Hémiptères qui vivent du suc de la plante. Seule, de 30 insectes examinés, une larve d'un Lygæide a présenté dans le tube digestif un Flagellé. Faisant la critique des expériences de Lafont et de Bouet et Roubaud, nous disions (2) que ces expériences démontrent seulement que les insectes qu'ils avaient employés dans leurs expériences peuvent convoyer l'infection d'une plante malade à une plante saine. « Si, comme tout semble le démontrer, l'insecte doit être l'hôte primitif des Flagellés, aucun des Hémiptères incriminés jusqu'à ce jour ne doit être l'agent transmetteur de l'infection. Le faible pourcentage d'insectes parasités par les *Leptomonas*, l'absence de parasites dans les glandes salivaires et dans la lumière de la trompe, l'insuccès des expériences faites avec des insectes pris dans la nature, plaident contre le rôle d'agent d'infection attribué à ces Hémiptères. »

2. Au Portugal le transmetteur est *Stenocephalus agilis* Scop.

Au Portugal nous avions aussi tenté, en vain, de découvrir l'insecte transmetteur du Flagellé des Euphorbes.

Nous avions rencontré, spécialement sur les tiges de *Euphor-*

(1) *Euphorbia indica* Lam. semble être une variété ou une forme de *E. hypericifolia* L.

(2) *Loc. cit.*, p. 128.

bia segetalis, le point d'inoculation, nous avions pu étudier cet accident primaire, mais l'insecte inoculateur nous avait échappé ou, plutôt, nous n'avions pu démontrer le rôle de transmetteur des insectes capturés sur des Euphorbes. Sur des *E. peplus* nous avions trouvé deux espèces d'Hémiptères : un *Coreidæ*, le *Stenocephalus agilis* Scop. et un *Cydnidæ*, *Brachypelta aterrima* Forst. Les recherches faites en 1911 sur ces Insectes ne nous avaient pas permis de constater la présence de Flagellés dans leur appareil digestif. Un fait nous avait alors impressionné : l'absence de *Stenocephalus* sur *E. segetalis*, l'espèce la plus souvent infectée. Cette année (1919), nous avons repris nos recherches et nous avons finalement rencontré sur des *E. segetalis* des *Stenocephalus*, ayant dans le tube digestif des *Leptomonas* avec tous les caractères de *L. davidi*. Les mœurs des *Stenocephalus* expliquent l'insuccès de nos premières recherches. Ces Hémiptères, pendant le jour, se cachent sous des feuilles sèches, près des Euphorbes. C'est seulement vers le soir qu'on les trouve sur les Euphorbes. Il m'est arrivé de prendre, le soir, sur des *E. peplus*, de nombreux exemplaires de *Stenocephalus* dans un endroit où nous n'avions pu en voir un seul pendant la journée. D'un autre côté, il y a des régions où les *Stenocephalus* sont largement infectés, tandis que ceux capturés en d'autres endroits se montrent presque constamment indemnes.

Quant aux espèces d'Euphorbes qui hébergent, au Portugal, des *Leptomonas* dans leur latex (*E. peplus* et *E. segetalis*), on les trouve ordinairement dans des endroits bien différents.

E. segetalis se trouve dans des terrains incultes, arides, caillouteux où l'ajonc constitue la végétation dominante. Dans la région que j'habite, j'ai à ma disposition, et assez éloignés les uns des autres, quatre endroits dans ces conditions.

Trois de ces endroits ont des *Segetalis* flagellosées dans un large pourcentage et des *Stenocephalus* infectés, tandis que dans le quatrième, ni les Euphorbes ni les Hémiptères ne se montrèrent parasités.

Les *Euphorbia peplus*, au contraire, sont très abondantes dans les jardins potagers et dans les vergers, spécialement dans les endroits humides. Le pourcentage de *E. peplus* infectées est très réduit, quoique *Leptomonas davidi* puisse donner à cette espèce de fortes infections.

Près de ma maison il y a un enclos où les *E. peplus* abondent et où se trouvent des *Stenocephalus* en grande quantité. Les Hémiptères capturés dans cet enclos se montrent toujours dépourvus de Flagellés comme je l'avais vu lors de mes premières recherches.

A quoi attribuer cette distribution si irrégulière de l'infection de l'Hémiptère et conséquemment de l'Euphorbe?

M. de Bergevin, d'Alger, m'a dit qu'il devait exister aussi au Portugal un autre *Stenocephalus*, le *St. marginicollis* Put. Or *St. marginicollis* diffère si légèrement de *St. agilis* (un peu plus grand et ayant une bordure blanc d'ivoire de chaque côté du pronotum) que, comme Puton, je crois qu'il s'agit seulement d'une variété du *S. agilis*. Après avoir vu un exemplaire de *S. marginicollis* d'Algérie envoyé par M. de Bergevin, j'ai cru n'avoir su distinguer les deux variétés de *Stenocephalus* et que l'une d'elles, seule, est infectée par *L. Davidi*. Ceci expliquerait la distribution si singulière de la flagellose des Euphorbes (1).

Dans cette monographie, nous étudierons l'infection de l'Insecte par *Leptomonas Davidi* et nous réservons pour un autre travail la solution d'autres questions intéressantes qui se rattachent à l'étude de ce curieux problème qui, sans doute, aura dans l'avenir une grande importance en *Phytopathologie*.

Caractères du *Stenocephalus agilis*. — Suballongé, opaque, dessus d'un gris plus ou moins testacé, ponctué de noir; 2e art. des antennes avec deux anneaux jaunes. Extrémité de l'écusson blanchâtre. Une petite tache blanchâtre au milieu du bord postérieur de la corie sur la suture de la membrane. Connexivum noir avec une grande tache jaune carrée à la base de chaque segment. Bords de l'abdomen et base des ailes rouges. Dessus du corps grisâtre. Lames rostrales; bec et pattes jaunes; base et extrémité des tibias, tarses, moitié apicale des cuisses intermédiaires et postérieures et les quatre cinquièmes des antérieurs noirs.

(1) En 1920, tous les exemplaires infectés que j'ai trouvés sont des *St. agilis* typiques. Je n'ai pas trouvé à Collares un seul *marginicollis*.
Au moyen d'exemplaires capturés en avril, j'ai pu infecter une *E. segetalis*. *Note ajoutée à la correction des épreuves.*)

Mœurs. — Presque rien n'est connu des mœurs des *Stenocephalus*. Douglas et Scott (*British Hemiptera. Ray Society, London*, 1865), disent : « Not common. Among Euphorbium on the coasts of Devon, in September (Stainton) ».

D'après G. Horvath de Budapest (*Bull Soc. Path. exotique*, t. VI, n° 5, 1913), *Stenocephalus agilis*, qui est assez commun dans l'Europe centrale et méridionale, vit sur les Euphorbes : « Les Hémiptères de l'Europe » de Ed. Saunders (1892), où l'on trouve de bonnes descriptions des espèces européennes, ne dit rien de la biologie de ces Hémiptères.

Dans l'ouvrage de Reuter « Lebensgewohnheiten und Instinkte der Insekten » publié en 1913, on ne trouve également pas d'indications sur les mœurs des *Stenocephalus*.

Ce que nous avons pu observer au Portugal sur les mœurs des *Stenocephalus* est encore très peu. C'est surtout en juillet et en août que les *Stenocephalus* sont les plus abondants. Pendant la journée, les Hémiptères se cachent sous des feuilles sèches, près des Euphorbes, et c'est seulement vers 7 à 8 heures du soir qu'on les trouve sur les plantes. Même en captivité et n'ayant pas de feuilles sous lesquelles se cacher, les *Stenocephalus* montent sur les Euphorbes seulement vers la nuit.

Pendant les mois de juillet et août, les *Stenocephalus* se trouvent souvent en copulation et les femelles, plus nombreuses que les mâles, ont presque toutes des œufs mûrs.

Les formes jeunes apparaissent, d'ordinaire, pendant le mois d'août. Malgré le grand nombre de femelles que nous avons conservées en cage, nous n'avons pas réussi à obtenir la ponte de l'Hémiptère. Cette ponte ne se fait pas, sans doute, sur l'Euphorbe, car nous avons examiné des centaines de plantes sans jamais y trouver d'œufs.

Stenocephalus semble être exclusivement un phytophage. Au Portugal il se nourrit aux dépens du latex d'*Euphorbia peplus* et d'*Euphorbia segetalis*. Nous ne l'avons jamais vu sur les autres espèces portugaises d'Euphorbes, ni sur d'autres plantes à latex. Etant sur l'Euphorbe et ayant choisi soigneusement l'endroit où introduire sa trompe, le *Stenocephalus* commence à pomper le latex.

La succion est prolongée et, parfois, accompagnée d'oscilla-

tions rythmiques de la tête. Quelque temps après, il change de place pour, de nouveau, se gorger de latex, et il procède ainsi un grand nombre de fois.

Ceci explique la multiplicité des lésions de chaque plante. L'Hémiptère a une grande prédilection pour les fruits des Euphorbes.

Les renseignements les plus complets que j'ai pu obtenir sur les mœurs du *Stenocephalus agilis*, je les dois à l'amabilité de M. E. de Bergevin.

D'après les observations de M. de Bergevin, en Algérie, les œufs éclosent vers les mois de juin et de juillet.

L'*imago* apparaît cinq ou six semaines plus tard. Les adultes se montrent peu à cette époque et on ne les rencontre guère après septembre (1). A ce moment, les *Stenocephalus* cherchent à hiverner et choisissent, comme retraite, les endroits chauds et bien ensoleillés et les sols meubles.

On trouve alors *Stenocephalus agilis* sous les pierres ou au pied des plantes touffues qui les abritent (thyms, armoises, chevelu des graminées). Ils passent là l'hiver et sortent au premier printemps, fin mars, commencement d'avril. Ils fréquentent alors les Euphorbiacées, principalement *Euphorbia helioscopica*. M. de Bergevin a aussi trouvé des *Stenocephalus*, quoique rarement, sur *E. paralias*.

L'appareil digestif de *Stenocephalus*. — Avant d'aborder l'étude de *L. davidi* chez l'Hémiptère, nous devons dire quelques mots sur l'appareil digestif de cet insecte, qui est très simple.

A un œsophage relativement long, fait suite un *mesenteron* grand, à parois épaisses et plissées, lequel se continue par l'intestin postérieur, mince et entortillé. Celui-ci se termine dans le rectum après avoir présenté une dilatation (le cæcum) rempli d'une substance brunâtre.

Les glandes salivaires sont très longues et très grêles.

(1) Cette année les *Stenocephalus* à Collares ont été rares. A partir du 18 septembre, malgré de nombreuses recherches, faites à différentes heures de la journée, nous n'avons pu obtenir un seul exemplaire. Nous les avons de nouveau trouvés pendant le mois de mars. Le 31 mars, nous avons capturé quatre *Stenocephalus agilis*. L'un des exemplaires, une femelle, avait des œufs.

Parasites des *Stenocephalus*. — Déjà en 1911 nous avions trouvé un *Stenocephalus* parasité par une larve, et, cette année, nous avons trouvé cinq *Stenocephalus* également parasités. Un des exemplaires avait deux larves à des phases différentes du développement. Ces larves se trouvent dans la cavité générale de l'insecte et elles détruisent tous les tissus, sauf ceux de l'appareil digestif. Dès qu'on ouvre la cavité générale de l'insecte, on voit ses larves sortir en se déplaçant avec des mouvements très vifs.

Croyant que ces parasites pouvaient jouer un rôle dans le cycle évolutif de *L. Davidi*, nous avons prié M. le professeur Mesnil de nous éclairer sur leur classification. A la demande de Mesnil, le Dr Roubaud nous a informé que ces larves doivent appartenir à un muscide d'une des tribus suivantes : *Gymnosominæ*, *Ocypterinæ* ou *Phasianinæ*, dont quelques représentants sont connus comme vivant à l'état larvaire, chez les Hémiptères. A l'état adulte, ces muscides fréquentent les fleurs, celles du lierre, par exemple.

Nous avons ensuite demandé à Roubaud de nous décrire sommairement ces larves.

« Larves de 3 à 5 millimètres, à 13 segments. Ovalaires, mais brusquement étirées à l'extrémité postérieure en un cône stigmatifère très court, tronqué au niveau des stigmates. Métapneustiques; chez la larve au 3e stade et mûre, les orifices stigmatiques postérieurs postés à l'extrémité de deux courts appendices chitineux parallèles, de couleur noire. Crochets buccaux normalement développés. Absence totale d'épines et de soies de reptation différenciées.

Il faut chercher maintenant à quel muscide ces larves appartiennent pour voir si elles jouent quelque rôle dans le cycle de la Leptomonade des *Stenocephalus*.

C'est ce que nous ferons l'année prochaine.

3. *Leptomonas Davidi* dans l'organisme de l'Insecte transmetteur.

A. — Les infections naturelles.

Comme je l'ai dit, le pourcentage de *Stenocephalus agilis* ayant des infections naturelles est très élevé, chez les *Stenocephalus* vivant sur *E. segetalis*, dans des terrains arides. Au con-

traire, chez cette même espèce d'Hémiptère habitant des endroits humides, où existe seulement *E. peplus*, les infections sont très rares.

Dans le tableau suivant, nous donnons le pourcentage de *Stenocephalus* infectés dans les différents endroits où nous avons pu les capturer.

	URCA	CARMO	GUDINHA	QUINTA DA PORTA
Hémiptères examinés	8	3	1	30 (1911) 36 (1919)
— infectés.	4	2	1	0 0
Espèce dominante d'Euphorbe	*segetalis*	*segetalis*	*segetalis*	*peplus*
Pourcent. d'Hémip. infectés .	50 0/0	66 0/0	100 0/0	0 0/0
	58,3 0/0			

Comme il est naturel, il existe des différences dans les formes qu'on trouve chez les exemplaires étudiés puisque leur infection date d'occasions différentes. Il existe cependant des particularités qui sont communes à tous les cas. Nous donnons ensuite les observations des *Stenocephalus* que nous avons trouvés infectés.

Stenocephalus 1. — Le seul infecté, de 3 exemplaires capturés à Urca, le 8 juillet.

Le plus grand nombre de *Leptomonas* se rencontre dans le mesenteron et elles sont extrêmement mobiles. La forme est élancée et presque toutes présentent son extrémité postérieure contournée. Dans l'intestin postérieur, dans le rectum et dans la trompe on voit de très rares formes.

Trompe. — Dans la trompe de cet exemplaire, on trouve quelques *Leptomonas* et quelques kystes. Ceux-ci sont très intéressants (fig. 36, pl. XIII). Ils possèdent une enveloppe très épaisse, se colorant en rouge par le Giemsa, et ils mesurent 4,5 μ de long sur 3 μ de large.

Mesenteron. — Ici les Flagellés sont abondants. On voit des parasites de formes très variées. A côté de *Leptomonas* longues, on en voit quelques-unes trapues.

Les figures de division longitudinale sont fréquentes. Un des flagelles est toujours plus court et plus mince que l'autre, mais les noyaux se trouvent chez les deux formes filles à une même distance des blépharoplastes. On voit quelques formes géantes.

Dans les autres segments de l'appareil digestif on ne trouve pas de Flagellés.

Nous avons cru d'abord que les *Stenocephalus* pouvaient avoir des formes de résistance dans la trompe, ce qui serait très curieux. L'examen d'autres exemplaires nous a amené à conclure que cet individu avait été récemment contaminé par les formes rectales d'un autre *Stenocephalus*.

Stenocephalus 6. — Le seul exemplaire infecté de 3 capturés à Urca le 26 juillet.

Dans le mesenteron on voit de nombreuses Leptomonades très mobiles. Dans les autres segments de l'appareil digestif, on ne voit pas de *Leptomonas*. Dans les préparations colorées par le Giemsa, on trouve des formes relativement rares, la plupart desquelles sont géantes. On voit aussi quelques formes rondes.

Stenocephalus 7. — Capturé le 31 juillet à Urca. Dans la cavité générale de l'insecte, on trouve deux larves de muscides en des phases différentes de développement. Aussi bien dans le mesenteron que dans l'intestin postérieur, on trouve des *Leptomonas* très mobiles. Dans une des larves, qui a été examinée, il existait aussi des rares *Leptomonas*.

Mesenteron. — Des *Leptomonas* de dimensions variables, quelques-unes géantes. Quelques formes de division. Outre ces formes flagellées, on trouve des petites formes kystiques (fig. 37 et 38, pl. XIII) d'une forme spéciale. Elles sont allongées et mesurent 6 μ de long sur 1,5 μ de large. Chez quelques-unes on voit nettement les deux noyaux, tandis que chez d'autres le trophonucleus seul est visible. Ces formes se colorent intensivement en rouge.

Intestin postérieur. — Des Leptomonades typiques et des formes kystiques.

Trompe. — De très rares kystes.

Stenocephalus 9. — Exemplaire capturé au Carmo, le 12 août, sous les feuilles sèches autour d'une *Euphorbia segetalis*. Un autre exemplaire, capturé dans la même occasion, ne se montrait pas infecté.

Mesenteron. — Ce segment de l'appareil digestif ne possède guère de Flagellés.

Intestin postérieur. — Dans cette partie, on trouve des Leptomonades de formes et de dimensions très variées.

Quelques formes ayant l'aspect qu'elles présentent d'habitude dans le latex. Torsion de l'extrémité postérieure, blépharoplaste sphérique, flagelle long. On trouve, en outre, des formes géantes (50 μ de long), dont les seules modifications sont celles des dimensions. Du reste, la structure est la même que celles des formes antécédentes.

Ces formes géantes, qu'on n'observe jamais dans le latex, ont toutes leurs dimensions augmentées, mais cette augmentation est plus sensible dans les distances blépharoplaste-noyau et noyau-extrémité postérieure. A côté de ces formes moyennes et géantes, on en trouve de très petites (6 à 7 μ × 1,5 μ) et celles-ci, quoique ayant la forme d'une Leptomonade, ne possèdent pas de flagelle.

Rectum. — On trouve quelques rares *Leptomonas* typiques. Les formes prédominantes sont des petites formes allongées (6 à 9 μ × 1,5 μ) sans flagelle (fig. 3, pl. XIV), quelques-unes piriformes ou arrondies et, finalement, des kystes.

Les exemplaires piriformes ont un cytoplasme se colorant en bleu pâle, un noyau et un blépharoplaste volumineux.

Elles mesurent 4,5 μ de long sur 2,2 μ de large.

Finalement, les kystes, de forme ovale, se colorant en rouge, ont une paroi très épaisse et, quelquefois, un seul noyau bien visible. Ils ont 3 μ de long sur 2 μ de large.

Glandes salivaires (pl. XIV, fig. 1). — C'est dans les glandes salivaires qu'on trouve un nombre énorme de parasites ayant des caractères qui les éloignent

des formes qu'on voit dans les autres segments. Ce sont de très petites formes ayant 6 μ de long sur 1 à 1,5 μ de large. Le cytoplasme est si pâle que, dans la plupart des formes, on n'aperçoit nettement que les deux noyaux.

Ces formes, même dans les préparations fortement colorées, ne montrent pas d'ordinaire de flagelle.

Stenocephalus 10. — Capturé au Carmo, le 14 août, sous des feuilles sèches, dans un endroit où on a cueilli une *E. segetalis* fortement flagellosée.

L'examen, à l'état frais, nous a montré la présence de formes très nombreuses et très mobiles, dans les glandes salivaires et de très rares Leptomades, presque immobiles, dans les autres segments de l'appareil digestif.

Trompe. — De très rares et petits kystes.

Mesenteron. — Très pauvre en formes. Celles-ci sont de deux types : Les unes, de dimensions moyennes, et ayant un flagelle rudimentaire, d'autres, aflagellées et très petites (8,2 à 9 μ × 1,5).

Intestin postérieur. — Comme dans le mesenteron, dans l'intestin postérieur on trouve de très rares formes. Les unes, petites, aflagellées, d'autres de dimensions moyennes (15 à 16 μ) et flagellées. Ces deux formes sont cependant si rares, qu'on a une grande difficulté à les trouver et, par la couleur de leur cytoplasma, les formes moyennes doivent être des formes de dégénérescence.

Rectum. — Dans cette partie du tube digestif, on trouve des formes moyennes et petites de dégénérescence, et quelques formes en train de s'enkyster.

Glandes salivaires. — De très nombreuses formes. La plupart sont très petites (3,8 μ à 6 μ × 1,2 à 1,5) à noyau compact, ou en des bandes stratifiées et à blépharoplaste volumineux. Ces formes, quoique moins abondantes, sont entièrement analogues à celles de *Stenocephalus* 9.

Outre ces formes salivaires, on en trouve d'autres longues (27 μ) et minces (2 μ) à moitié postérieure contournée en spirale et à flagelle très rudimentaire (4,5 μ) sortant d'un blépharoplaste sphérique. Leur cytoplasme se colore en rose. Un grand nombre de ces formes longues sont, évidemment, des formes de dégénérescence.

B. Les infections expérimentales.

Pour éclaircir l'évolution des *Leptomonas* chez *Stenocephalus* nous avons choisi des Hémiptères capturés dans un endroit où nous n'avions jamais trouvé d'insectes infectés.

Dans une cage en tulle, modèle Langeron, nous mettions des *Stenocephalus* et par l'ouverture de la cage passaient seulement les branches infectées d'*Euphorbia segetalis*. De cette manière, nous avions la certitude d'infecter l'Hémiptère et de pouvoir indiquer, d'une façon précise, la date de l'infection. En effet, tous les Hémiptères, comme dans la nature, commençaient à sucer l'Euphorbe vers le soir.

Comme nous l'avons fait avec les infections naturelles, nous décrirons, pour chaque cas, les Flagellés trouvés dans les différents segments de l'appareil digestif.

Stenocephalus 3. — *Infection datant de quarante heures.* — Les formes sont très rares, même dans le mesenteron, et celles qu'on y voit ne semblent pas être différentes, ni par leur forme, ni par leurs dimensions, de celles qu'on trouve dans le latex.

On ne voit pas de figures de division.

Stenocephalus 2. — *Infection datant de trois jours.* — Les *Leptomonas* sont très abondantes dans le mesenteron et dans l'intestin postérieur, très rares, au contraire, dans les autres parties de l'appareil digestif.

Les formes sont non seulement très abondantes, mais elles offrent un remarquable polymorphisme.

a) *Formes aflagellées arrondies ou ovalaires.* — Elles ont 6 μ de diamètre ou 7,5 μ × 6 μ. Cytoplasme se colorant en bleu, noyau relativement volumineux (2,2), blépharoplaste périphérique allongé.

b) *Formes flagellées très petites.* — Ovalaires de 7,5 μ × 4,5 μ. Flagelle : 10,5 μ. Cytoplasme ayant des granulations de volutine.

c) *Formes flagellées courtes.* — Ces formes sont courtes (10 μ à 13 μ) et larges (2,7 à 2,8 μ); leur extrémité antérieure est arrondie et la postérieure brusquement effilée. Le blépharoplaste est sphérique ou légèrement allongé et le flagelle mesure 14 μ. Le cytoplasme de ces formes se colore en violet. Plusieurs de ces formes ont dans le cytoplasme des petites granulations violet foncé.

d) *Formes flagellées moyennes.* — Elles se présentent avec les caractères de *Leptomonas davidi* du latex. Ce sont des parasites élancés (19,5 μ × 1,5 μ) à extrémités effilées: l'antérieure brusquement et la postérieure graduellement effilée. Le blépharoplaste est sphérique; le noyau, qui occupe l'union du tiers antérieur et du tiers moyen du corps, est elliptique ou arrondi et il est situé dans l'endroit où, d'ordinaire, le corps subit une torsion autour de son axe. Le cytoplasme se colore en bleu foncé ou violet bleuâtre. Le flagelle est assez long (22,5 μ). Dans la plupart de ces exemplaires, on voit nettement le flagelle s'insérer directement sur le blépharoplaste et avoir un trajet intracytoplasmique plus ou moins flexueux.

e) *Formes de division.* — Les formes de division sont excessivement abondantes et de différents types. La plus fréquente est la division longitudinale banale. Ordinairement celle-ci débute par le blépharoplaste, qui de sphérique devient bacilliforme. D'une des extrémités du blépharoplaste naît le nouveau flagelle. Il est fréquent de trouver des *Leptomonas* ayant un seul noyau, un seul blépharoplaste et deux flagelles, un long, le primitif, et l'autre très court et plus mince, celui de nouvelle formation (fig. 13 et 14, 16 et 17, pl. I).

On voit quelquefois la Leptomonade ayant un seul blépharoplaste bacilliforme, deux flagelles de dimensions très inégales et deux noyaux, l'un en arrière de l'autre. Habituellement, la scission du blépharoplaste et du noyau se fait simultanément de sorte qu'on a alors les deux blépharoplastes et les deux noyaux fils à côté l'un de l'autre. Mais tandis que dans le latex la division de la Leptomonade est accompagnée de l'inclinaison de l'axe du noyau, dans l'intestin de l'Hémiptère le noyau s'allonge perpendiculairement à l'axe

du parasite et les noyaux des formes filles sont à une égale distance des blépharoplastes respectifs (fig. 19 et 20, pl. I).

A côté de ces formes de division binaire, on en trouve d'autres de division multiple, de différentes sortes.

Les plus simples sont celles dans lesquelles la division nucléaire est très précoce et se fait plusieurs fois. On trouve alors des Leptomonades élancées, ayant un seul blépharoplaste, un seul flagelle et trois noyaux ou plus (fig. 22, pl. XIII).

D'autres parasites piriformes, assez larges, à un seul blépharoplaste sans flagelle, possèdent de nombreux noyaux (5 ou 6).

Quelques autres formes, du même type, mais flagellées, à un seul ou deux flagelles, ont aussi un grand nombre de noyaux.

Finalement, on voit des formes grandes (15 à 18 μ × 10,5 à 15 μ) irrégulièrement arrondies, à plusieurs blépharoplastes et à plusieurs noyaux rappelant les formes schizogoniques de certaines Hémosporidies.

Toutes ces formes de division multiple, qui ne se voient jamais dans le latex de l'Euphorbe, se trouvent chez le *Stenocephalus* seulement dans les premiers jours de l'infection.

Nous avons aussi rencontré quelques formes que j'interprète comme des figures de conjugaison. Ce sont des formes relativement volumineuses (19,5 × 4,5 μ), à un seul noyau grand, et un seul blépharoplaste, long. Dans son extrémité postérieure, le corps est fendu et, dans le cytoplasme, on voit une ligne claire qui indique la séparation des deux formes (fig. 23, pl. I).

Dans le rectum, les parasites sont rares et on y trouve des formes rondes, aflagellées, mais sans enveloppe. Ce sont, sans doute, les phases précédant l'enkystement.

Dans les glandes salivaires, on ne trouve pas de *Leptomonas*.

Stenocephalus 5. — *Infection de quatre jours.* — Dans le mesenteron on trouve des formes très mobiles, mais rares. Dans la partie antérieure de l'intestin, on ne trouve pas de Leptomonades. Dans la cavité générale de cet Hémiptère existait une larve, à mouvements très vifs. L'examen des préparations colorées ne montre que des Leptomonades typiques.

Stenocephalus 8. — *Infection de quatre jours.* — Dans le mesenteron existent de nombreuses formes, très agiles. Dans l'intestin postérieur, au contraire, des formes assez rares et à mouvements très lents.

Trompe. — Dans la trompe, nous n'avons vu aucune forme de Leptomonade.

Mesenteron. — La plupart des formes se montrent avec les caractères habituels des Leptomonades du latex : élancées, corps contourné, cytoplasme bleuâtre, blépharoplaste sphérique et flagelle long. D'autres ont des dimensions bien supérieures aux formes du latex (45 μ), quoique ayant les mêmes caractères structuraux. Entre les formes géantes et les formes moyennes, on trouve des formes de transition chez lesquelles l'augmentation de dimensions est relativement petite, mais les distances entre les différents éléments structuraux sont fortement altérées.

Les dimensions s'accroissent d'abord dans la direction noyau-blépharoplaste et ensuite dans la direction noyau-extrémité postérieure.

Il existe aussi des formes très minces et longues : 37,5 sur 0,7 μ de large. Les figures de division longitudinale sont très abondantes et le processus de division est si actif, qu'on trouve de nombreuses formes ayant les deux

formes filles de la division binaire encore liées par leur extrémité postérieure, et chacune d'elles ayant deux noyaux (pl. XIV, fig. 5).

D'autres formes ont quatre ou cinq Leptomonades déjà individualisées dans leur extrémité antérieure et encore adhérentes par leurs extrémités postérieures (pl. XIV, fig. 5).

Les formes rondes ou ovalaires ne sont pas abondantes, mais on en voit quelques-unes dont les dimensions oscillent entre 4,5 et 9 μ. Finalement, on trouve quelques jolis kystes à noyau rond et à blépharoplaste bacilliforme. Dans les préparations du mesenteron de cet exemplaire, on trouve des formes flagellées mais ablépharoplastiques et quelques formes dégénérées à blépharoplaste hydropique.

Stenocephalus 4. — *Infection de huit jours.* — Dans cet Hémiptère, les parasites qu'on trouve dans les différents segments de l'intestin ont un aspect entièrement différent de celui des Leptomonades des cas d'infection plus récente. Dans le mesenteron, aussi bien que dans l'intestin postérieur, mais spécialement dans le premier, on ne trouve que rarement des Leptomonades ayant un aspect typique.

Les formes qui dominent sont très petites, très minces, à cytoplasma se colorant faiblement par le Giemsa. Le noyau et le blépharoplaste se colorent intensivement et celui-ci est linéaire, presque invisible, et on remarque un petit vacuole prénucléaire. Ces formes mesurent 5 à 6 μ de long sur 0,7 de large ; quelques-unes sont flagellées, d'autres ne possèdent aucun flagelle (pl. I, fig. 30 à 35).

Rectum. — Dans le rectum, on trouve des masses compactes de ces mêmes Leptomonades. De ces formes seulement les noyaux et les blépharoplastes sont bien colorés. Leurs contours sont très mal définis.

Dans les formes d'infections récentes (3e jour de l'infection), le cytoplasme d'un grand nombre d'exemplaires, spécialement dans leur partie post-nucléaire, possède de nombreuses granulations se colorant en violet foncé par le Giemsa.

Ces granulations doivent être considérées comme de la volutine. Elles ont été vues chez d'autres *Herpetomonidæ* : par Porter, chez *H. jaculum*, par Mackinnon chez des Herpetomonades de différentes mouches du fumier et par Strickland chez *H. luciliæ*. Strickland désigne ces granulations sous le nom de chromidies, quoiqu'il les considère comme étant de la volutine ; Porter les appelle *chromidia*, mais démontre qu'il s'agit de matériaux nutritifs de réserve et Mackinnon dit que ces granulations traduisent l'activité métabolique des Flagellés.

A. Porter, modifiant les conditions de vie de *H. jaculum*, a vu que les granulations cytoplasmiques apparaissent dès que les Protozoaires sont placés dans un milieu plus riche. Strickland affirme que ce sont les Herpetomonades les plus vigou-

reuses qui contiennent le plus grand nombre de granulations. Or, d'après Reichenow, la volutine est une combinaison d'acide nucléique qui doit être considérée comme une matière de réserve spéciale pour la production des nucléo-protéines de la chromatine.

Il est donc naturel que la présence des granulations chromatinoïdes soit liée à des conditions spéciales de nutrition se traduisant par une multiplication plus active.

Dans le cas de *Leptomonas Davidi*, les granulations de volutine ne se rencontrent pas dans les parasites de l'Euphorbe (1), mais seulement dans ceux de l'Insecte aux premiers jours de l'infection.

De même, chez les Trypanosomes, ces granulations sont rares ou manquent complètement dans les formes du sang, et existent, au contraire, chez l'hôte invertébré, hôte primitif (formes de *Trypanosoma gambiense* chez *Glossina palpalis* et de *T. brucei* chez *G. morsitans* (Bruce), formes de *T. nanum* chez *G. palpalis* (M. Robertson).

Muriel Robertson a trouvé d'abondantes granulations de volutine dans les formes de *Trypanosoma vittatæ* chez *Glossiphonia*. Au contraire les formes du même Trypanosome chez une autre sangsue, qui n'est pas la convoyeuse du Flagellé, ne possèdent pas de granulations. Ces faits nous conduisent à penser que la présence des granulations de volutine traduisent, peut-être, la réduction de chromatine précédant les phénomènes de conjugaison (2).

4. Evolution des *Leptomonas* dans l'organisme du *Stenocephalus*.

L'étude des infections naturelles et expérimentales du *Stenocephalus* nous fournit des éléments suffisants pour avoir une

(1) Contre l'opinion de ceux qui voient dans les granulations de volutine le signe d'une dégénérescence, dépose le fait de l'absence de ces granulations chez les formes mortes et dégénérées du latex. La coloration rose du cytoplasme et les altérations du blépharoplaste sont les phénomènes de dégénérescence des Leptomonades, comme nous l'avons montré dans la partie I de ce travail.

(2) Chez certains protozoaires (macrogamétocytes d'*Adelea*), il existe une réduction nucléaire par formation de chromidies, comme processus préparatoire de la conjugaison.

idée nette de l'évolution du Flagellé dans l'appareil digestif de l'Hémiptère.

Tout d'abord, les Leptomonades se multiplient activement par division binaire ou par division multiple. La multiplication est si active qu'on trouve souvent deux formes filles, encore non séparées, chacune d'elles présentant déjà des phénomènes de division.

Dans les phénomènes de division binaire, il y a des particularités différentes de celles qu'on voit dans la division des *Leptomonas* du latex. Chez l'insecte, le noyau s'allonge perpendiculairement à l'axe du parasite et ne subit pas l'inclinaison de 45° qu'on voit dans les formes en voie de division du latex.

Ces formes de division binaire et multiple sont particulièrement abondantes entre le troisième et quatrième jour de l'infection. C'est vers le troisième jour de l'infection qu'apparaissent des phénomènes que nous ne pouvons interpréter que comme des phénomènes de conjugaison. C'est un processus d'isogamie. Les deux formes doivent se joindre par leurs extrémités antérieures et il existe une fusion des noyaux et des blépharoplastes.

Avant la fusion, les flagelles disparaissent. Il est facile de distinguer les phénomènes de conjugaison de ceux de division. Dans la division, la scission cytoplasmique est précédée par la division du blépharoplaste et du noyau et elle commence par l'extrémité antérieure, comme il arrive avec les formes du latex; dans la conjugaison, on voit une forme bien plus volumineuse, et le cytoplasme se présente fissuré à son extrémité postérieure.

A notre avis ces formes résultent d'une conjugaison isogamique (1) qui doit précéder les formes de division multiple représentées dans les figures 27 et 28, planche XIV.

Il me semble que les blépharoplastes des gamètes dégénèrent. On trouve, en effet, quelquefois des formes volumineuses, sans blépharoplastes, et ayant deux noyaux encore séparés.

A partir du quatrième jour de l'infection, les *Leptomonas* chez

(1) Chez *Copromonas subtilis*, si bien étudiée par C. Dobell, les isogamètes se fusionnent aussi par leur extrémité antérieure et la division, comme chez *Leptomonas Davidi*, débute par l'extrémité antérieure.

le *Stenocephalus* augmentent de dimensions, de sorte qu'on y trouve des formes géantes, qu'on ne voit jamais dans le latex. Ces formes peuvent atteindre 50 μ; toutes leurs dimensions s'accroissent, mais spécialement la distance du noyau à l'extrémité postérieure.

Entre le quatrième et le huitième jour de l'infection, apparaissent des formes excessivement petites, entièrement différentes de celles qu'on trouve jusqu'alors. Ces parasites, qu'on trouve vers le huitième jour, dans toute l'étendue de l'appareil digestif, mais plus abondants dans le mesenteron, envahissent plus tard les glandes salivaires où elles forment des amas énormes (1).

Ces parasites, qu'on ne peut manquer de considérer comme les formes infectantes, sont très petits (4,5 à 7 μ × 0,8 à 1,5 μ) et leur cytoplasme, très pâle, ne se colore pas en bleu par la méthode de Giemsa. Les noyaux et les blépharoplastes se colorent intensivement et la presque totalité des exemplaires ne possèdent pas de flagelle. Dans les préparations, même celles colorées le plus intensivement, on voit des amas énormes, où on ne distingue guère que les tropho- et les kinéto-nucleus à cause de la faible colorabilité du cytoplasme. Dans les infections naturelles, quand les glandes salivaires sont bourrées de ces petites formes (2), le nombre des parasites dans les autres segments de l'appareil digestif est en général très petit. Les formes qu'on trouve alors sont, d'ordinaire, les formes géantes dont la signification nous est inconnue. Les formes de résistance, les kystes, ne sont jamais abondantes chez *Stenocephalus agilis*. Ils se trouvent dans l'intestin et dans le rectum, mais en nombre assez faible. Nous avons trouvé, dans un cas d'infection naturelle, des kystes très nets dans la trompe, mais l'examen des

(1) Etudiant l'invasion des glandes salivaires de *Gl. palpalis* par *Trypanosoma gambiense*, Bruce disait : « It seems highly improbable that they pass from the alimentary canal by way of the salivary duct, and as they are never found in the body cavity, it is also difficult to see how they can make their way directly from the intestine to the abdominal portion of the salivary glands. » (Bruce. *Proc. Royal Soc., B*: vol. **83**, 1911.) De même que chez *Glossina*, chez *Stenocephalus*, nous n'avons jamais trouvé de Flagellés dans la cavité générale, et, d'après ce que nous avons vu, nous sommes convaincus que l'infection se fait d'arrière en avant et que les formes des glandes salivaires y sont parvenues en remontant les canaux des glandes.

(2) D'après ce que nous avons vu, l'invasion des glandes salivaires par les petites formes n'apparaît pas avant le mois d'août.

formes des autres segments du tube digestif de l'exemplaire en question montre que ces kystes devaient faire partie de ceux qui ont servi à la contamination de l'Hémiptère (formes fécales de résistance). La présence des formes infectantes dans les glandes salivaires des Hémiptères infectés depuis un certain nombre de jours (plus de huit jours) et la rareté des formes de résistance rectales dans les infections anciennes, montrent que, d'ordinaire, le cycle évolutif de *L. davidi* se passe entre l'Hémiptère et la plante et que la contamination d'Hémiptère à Hémiptère doit être plutôt rare. *Stenocephalus agilis* est non seulement un transmetteur de la Flagellose, mais l'hôte animal et primitif de la Leptomonade.

IV. — L'ÉVOLUTION DE *L. DAVIDI* DANS LES EUPHORBES.

A. Accident primaire. — Dans la première partie de notre travail, nous avons décrit l'aspect du point d'inoculation, et nous avons donné la description de l'histologie pathologique de cette lésion. Nous avons insisté sur ce que, entre l'inoculation et l'apparition de la Flagellose, il s'écoule toujours un temps plus ou moins long.

Nous avons désigné cette lésion sous le nom, qui nous a semblé expressif, d'*accident primaire* par analogie avec ce que l'on observe dans la syphilis. A cause de la rareté de *Stenocephalus*, nous n'avons pas encore pu étudier l'évolution de *Leptomonas* dès qu'elle est inoculée jusqu'au moment de l'infection généralisée ; mais en faisant des examens répétés de quelques accidents primaires, nous avons pu vérifier certains faits qui méritent d'être mentionnés.

Même dans les cas où le latex ne contient pas encore de *Leptomonas*, on trouve celles-ci, en grand nombre, au point d'inoculation. Dans l'accident primaire on rencontre déjà d'ordinaire des Leptomonades ayant les caractères de celles du latex et plusieurs d'elles en division, mais on y trouve surtout de petites formes flagellées ou sans flagelle, des parasites ronds aflagellés ou pourvus de flagelles et piriformes.

Les petites formes flagellées (Pl. XIV, fig. 7) rappellent bien, par leur aspect, les formes infectantes (les formes métacycliques);

elles ont 6,7 à 10,5 μ de long sur 1,5 μ de large. Les flagelles ont 7,5 μ à 10,5 μ. On trouve quelques-unes de ces formes

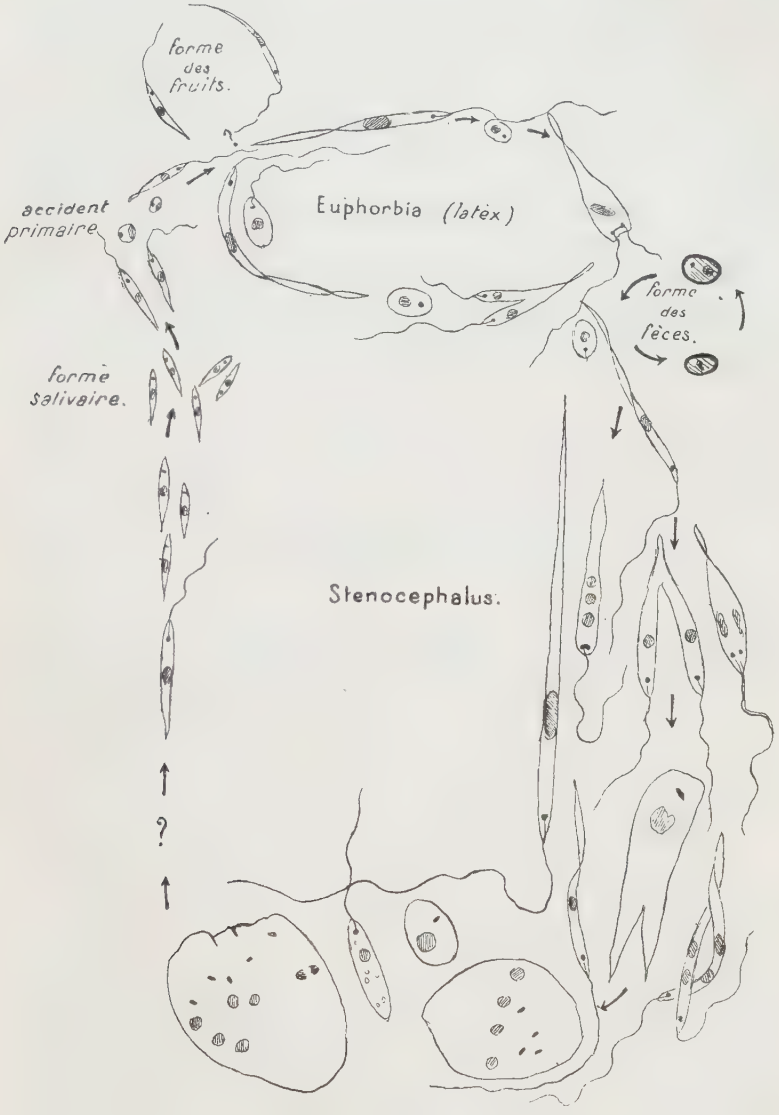


FIGURE 2.

présentant déjà une torsion de l'extrémité postérieure. On voit aussi quelques formes sans flagelle ayant 10,5 μ de long.

Les formes rondes ou ovales (Pl. XIV, fig. 7) sont d'ordinaire très petites, 3 μ à 3,7 μ sur 2,2 μ à 3 μ, avec un cytoplasme se colorant en bleu plus ou moins foncé par le Giemsa. Le blépharoplaste, arrondi et petit (0,5 μ à 0,7 μ), est situé dans la périphérie. Le noyau, rond ou elliptique, très riche en chromatine, est aussi périphérique et il a de 0,7 μ à 1,5 μ.

A côté de ces formes on en trouve encore d'autres plus petites, ayant seulement 1,5 μ de diamètre. On voit quelques parasites piriformes qui, par leurs dimensions, semblent représenter des éléments de transition.

Comme il arrive avec *Leptomonas* (*Leishmania*) *tropica* dans les tissus des animaux, *Leptomonas Davidi*, dans ceux de l'Euphorbe, semble prendre spécialement la forme arrondie.

B. Formes parasites des fruits. — Tandis que, dans les enveloppes des fruits, on trouve, comme il est naturel, des Leptomonades avec les caractères habituels à celles qui vivent dans le latex, dans les fruits, dissociés dans la solution physiologique, on trouve des Leptomonades de dimensions bien plus petites et quelques-unes aflagellées.

Dans le tableau suivant, nous donnons en μ les dimensions moyennes des formes du latex et de celles des fruits.

	EUPHORBE	
	Latex	Fruit
	—	—
Longueur	19,5 à 21,5	11,7
Largeur	1,5	1,5
Flagelle	10,5 à 16,0	6,6
Blépharoplaste à extrémité antérieure	1,5	1,5
— à noyau	3,3	1,6
Noyau	2,0 à 3,0	2,1
— à extrémité postérieure	13,0	6,5

Nous avons aussi trouvé dans les fruits quelques petites formes enkystées semblables à d'autres du mesenteron de *Stenocephalus* 7. Ces formes elliptiques, excessivement petites, possèdent un seul noyau et nous ne sommes pas encore bien sûr qu'elles appartiennent au cycle évolutif de *L. Davidi*.

Peut-être *Leptomonas* aura-t-elle, dans les fruits, des formes de résistance garantissant la transmission héréditaire de la flagellose? Même dans les formes des graines, l'Euphorbe peut

constituer un réservoir du virus, parce qu'un certain nombre d'exemplaires de *E. segetalis* conservent des Leptomonades dans le latex pendant l'hiver. Vers la fin de janvier, j'ai cueilli un exemplaire de *segetalis* très robuste (59 centimètres de hauteur) et fortement infecté.

D'un autre côté, les exemplaires de *Stenocephalus agilis* qui hivernent, infectent au printemps suivant les Euphorbes dont ils se nourrissent. Les formes jeunes des *Stenocephalus* doivent s'infecter en se nourrissant avec du latex infecté la même année par les formes adultes ayant hiverné ou bien avec du latex infecté de Leptomonades depuis l'année précédente. Le 31 mars, j'ai trouvé deux des sept *Stenocephalus agilis* infectés. Ils avaient dans l'intestin de nombreuses Leptomonades géantes et des formes naines (3,7 à 4,5 μ). Les glandes salivaires étaient infectées.

V. — LA LEPTOMONADE DES EUPHORBES EST-ELLE UNE ESPÈCE BIEN DÉFINIE?

Maintenant, la question se pose de savoir si les Leptomonades parasitant les Euphorbes de l'Afrique, de l'Europe, de l'Amérique et de l'Asie constituent une seule espèce : *Leptomonas Davidi* Lafont. Il nous semble que cela ne doit pas être ainsi. Morphologiquement, on n'arrive pas à distinguer ces Leptomonades (1), mais l'identité des formes du parasite dans le latex ne représente plus sans doute qu'un phénomène de convergence, dû à l'identité du milieu dans lequel ces formes vivent.

Ce n'est donc pas entre les formes du latex qu'on doit établir la comparaison, mais plutôt entre les formes des Hémiptères qui dans les régions respectives les transmettent aux Euphorbes. Si on arrive à démontrer que la Leptomonade du *Stenocephalus* est différente de celle qui se trouve dans l'Invertébré qui à Maurice transmet la Flagellose, alors la désignation de *L. Davidi* ne conviendra que pour l'espèce Mauricienne et, pour l'espèce du *Stenocephalus*, il faudrait une autre désignation. *Leptomonas*

(1) Grâce à l'amabilité de Lafont, nous avons pu comparer des préparations des Leptomonades de Maurice avec les nôtres.

Lafonti serait un nom très juste comme hommage à celui qui a commencé à écrire, dans la Pathologie végétale, un chapitre nouveau et des plus intéressants (1).

VI. — EXISTE-T-IL QUELQUE RELATION ENTRE LA FLAGELLOSE ET CERTAINES ZOONOSES?

Dans son travail sur le Flagellé des Euphorbiacées, A. Lafont disait: «... ont revu sans peine le parasite qui a passionné Maurice, car la croyance générale pensait retrouver là l'origine du Surra ».

D'un autre côté, H. B. Fantham (1915) incline à admettre la possibilité d'un rapport entre la Flagellose et le Kala-Azar (2). Il était bien naturel, en effet, d'admettre une connexion entre la Flagellose et les maladies animales à Trypanosomes et à *Leishmania*, ceux-ci étant, évidemment, des Flagellés d'Insectes adaptés à la vie dans les vertébrés.

Mais, pour cela, il faudrait que l'Insecte, hôte du Protozoaire, fût en même temps un hématophage.

Tel n'est pas le cas, que nous sachions, pour *Stenocephalus* qui est phytophage exclusif. Du reste, à Collares où la Flagellose est largement disséminée, nous ne connaissons ni Leishmanioses cutanées, ni cas de Kala-Azar. Malgré ces considérations, nous avons essayé avec *Leptomonas Davidi* l'infection de souris et de campagnols. Ces expériences ont été faites cette année, seulement avec du latex des Euphorbes parasitées, par inoculation intrapéritonéale et par ingestion. Nous n'avons réussi à infecter ni les souris, ni les campagnols par inoculation. Les *Microtus* ayant ingéré du latex sont morts par intoxication sans être

(1) Au Brésil, certaines plantes à caoutchouc ont une maladie qui rappelle beaucoup la Flagellose des Euphorbes. On y doit chercher des Leptomonades. Certains Hémiptères phytophages ont des Leptomonades et, chez deux, il existe des formes dans les glandes salivaires (*Leptoglossus membranaceus*, étudié par Muriel Robertson dans l'Ouganda, et *Pyrrhocoris apterus*, par Zotta en Roumanie). Il est naturel de supposer que ces Hémiptères puissent produire des Flagelloses dans les plantes dont ils se nourrissent. Peut-être l'Hémiptère *Helopeltis* joue-t-il le rôle de transmetteur d'une Flagellose du Cocaoyer.

(2) « It seems remarkable that no attempt was made to trace a possible connection between the plant *Herpetomonas* and Kala-azar, doubtless such a possibility was considered too remote. »

infectés. Des scarifications faites dans la cornée de jeunes lapins, mises en contact avec du latex très parasité, n'ont rien donné.

Ces expériences semblent démontrer que les formes du latex ne sont pas infectantes. Nous avions l'intention de répéter ces mêmes expériences avec les formes salivaires des *Stenocephalus*, mais cette année le matériel a été si réduit que nous ne pûmes les réaliser.

Nous n'avons pas cependant d'illusions sur la portée pratique de ces expériences; même si on obtenait des résultats positifs, comme dans les expériences si intéressantes de Laveran et Franchini et de Fantham et Porter, avec des Flagellés d'autres Insectes, on pourrait simplement conclure que les parasites de l'intestin des Arthropodes, introduits accidentellement chez les Vertébrés, peuvent s'y adapter. S'il s'agit d'Arthropodes suceurs et si, ce qui n'est pas toujours le cas, leurs Flagellés parasites ont des formes salivaires infectantes, réalisant les premiers pas de l'adaptation au Vertébré, ces Flagellés, dans l'avenir, auront deux hôtes, le primitif et le secondaire. Il est naturel, dès lors, de supposer qu'un grand nombre d'Hémoflagellés n'ont pas eu d'autre origine.

Dans notre cas spécial, on ne peut cependant pas supposer que le *Leptomonas* de la plante puisse jouer le rôle d'agent de quelque maladie animale, parce que l'Hémiptère est exclusivement phytophage.

Collares, mars 1920.

APPENDICE (1)

Espèces de *Stenocephalus* Latreille connues dans la région paléarctique :

1. *St. medius* M. R	Europe moyenne, Italie, Asie Mineure, Caucase, Turkestan.
Var. *brevis* Horv. . . .	Caucase.
2. *St. sibericus* Jak	Turkestan, Sibérie.
3. *St. crassicornis* Horv..	Asie Mineure.

(1) Nous devons cette liste à l'amabilité de M. E. de Bergevin, le savant Hémiptérologiste d'Alger.

4. *St. agilis* Scop.	Europe moyenne et méridionale, Canaries, Nord-Afrique.
Var. *femoralis* Monath . .	Canaries, Algérie.
Var. *marginicollis* Puton.	France méridionale, Péninsule ibérique.
5. *St. robustus* Jak.	Caucase.
6. *St. tunetanus* Horv.	Algérie, Tunisie.
7. *St. divulsus* Horv.	Turquie, Grèce.
8. *St. prunosus* Horv.	Autriche.
9. *St. ferghunensis* Horv.	Perse, Turquie, Turkestan.
10. *St. setulosus* Terr.	Algérie, France méridionale, Russie, Asie Mineure, Crimée, Caucase.
11. *St. albipes* Fahr	Europe moyenne et méridionale, Maroc, Asie Mineure, Syrie, Crimée, Caucase.
12. *St. marginatus* Terr.	Perse, Turquie, Turkestan.
13. *St. Putoni* Horv.	Syrie.
14. *St. simidiatus* Jak.	Perse.
15. *St. Bianchii* Jak.	Perse.
16. *St. femoralis* Kent.	Chine septentrionale.
17. *St. Horvathi* Kent.	Chine septentrionale.
18. *St. pallidus* Sign.	Egypte, Arabie.

BIBLIOGRAPHIE

I. — Sur la morphologie de *L. Davidi* dans le latex (1).

A. Laffont, Sur la présence d'un Leptomonas, parasite de la classe des Flagellés, dans le latex de trois Euphorbiacées. Ces *Annales*, t. **24**.

A. Laveran et F. Mesnil (1912), La Flagellose des Euphorbes, *in* Trypanosomes et Trypanosomiases, Masson, Paris.

C. França (1914), La Flagellose des Euphorbes. *Arch. für Protistenkunde.*

A. Visentini (1914), La Flagellosi della Euphorbia in Italia. *Rend. della R. Accademia dei Lincei*, Vol. **23**, 5e série, fasc. 12.

II. — Sur les genres *Herpetomonas*, *Leptomonas* et *Crithidia*.

O. Bütschli (1889), Protozoa. Mastigophora, I Band, II Abtheilung. *Bronns Klass. und. Ordn. des Thierreichs*, p. 813, fig. 1 *a-g*, pl. XL.

G. N. Calkins (1909). Protozoölogy, p. 233.

A. Castellani et A. J. Chalmers (1910). Manual of Tropical Medicine, p. 274.

F. Doflein (1911), Lehrbuch der Protozoenkunde.

E. A. Minchin (1912). An Introduction to the Study of the Protozoa, p. 282.

S. Prowazek (1914), Die Entwicklung von Herpetomonas. *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. **20**.

(1) La bibliographie complète, jusqu'en 1914, se trouve dans la partie I de ce travail.

F. G. Novy, W. J. Mac Neal et H. N. Torrey (1907), The Trypanosomas of mosquitoes and other Insects. *Journ. of Infections Diseases*, vol. **4**, nº 2.

W. S. Patton (1908). *Herpetomonas Lygæi. Arch. für Protistenkunde*, t. **23**.

W. S. Patton et C. Strickland (1908), A critical review of the relation of blood-sucking Invertebrates to the life cycles of the trypanosomes of Vertebrates. *Parasitology*, vol. **1**, nº 4.

E. Chatton et E. Alilaire (1908), Coexistence d'un *Leptomonas* (*Herpetomonas*) et d'un *Trypanosoma* chez un muscide non vulnérant, *Drosophila confusa* Staeger. *C. R. Soc. de Biol.*, 6 juin.

W. S. Patton (1909), The Parasite of Kala-Azar and allied organisms. *Lancet*, 30 janvier.

S. Provazek (1909), Kritische Bemerkungen zum Trypanosomenproblem. *Arch. f. Schiffs- und Tropen Hygiene*, t. **13**.

D. L. Mackinnon (1909), Note on two new Flagellate Parasite in Fleas « *Herpetomonas ctenophthalmi* » n. sp. and « *Crithidia histrichopsyllæ* » n. sp. *Parasitology*, vol. **2**, nº 3.

E. Chatton (1909), Sur un Trypanosomide nouveau *Leptomonas agilis*, d'un Réduve indigène (*Harpactor iracundus* Scop.). *C. R. Soc. de Biol.*, 12 juin.

E. Chatton (1909), Sur un Trypanosomide nouveau d'une Nyctéribie, et sur les relations des formes *Trypanosoma*, *Herpetomonas*, *Leptomonas* et *Crithidia*. *C. R. Soc. de Biol.*, 3 juillet.

A. Porter (1910), The life-cycle of « *Herpetomonas jaculum* » Léger, parasitic in the alimentary tract of « *Nepa cinerea* ». *Parasitology*, v. **2**, nº 4.

D. L. Mackinnon (1910), Herpetomonas from the alimentary tract of certain dung-flies. *Parasitology*, vol. **3**, nº 3.

W. S. Patton 1910), Experimental infection of the Madras basaar fly *Musca nebulo* by *Herpetomonas muscæ domesticæ* (Burnett). *Bull. Soc. Path. exotique*, t. **3**, nº 4.

H. M. Woodcock (1911), A Reply to Miss Porter's Note entitled Some Remarks son the genera *Crithidia*, *Herpetomonas* and *Trypanosoma*. *Parasitology*, vol. **5**, nº 2.

C. Strickland (1911), Description of a Herpetomonas parasitic in the alimentary tract of the common Green-bottle Fly, *Lucilia* sp. *Parasitology*, vol. **4**, nº 3.

N. B. Fantham (1912), *Herpetomonas pediculi*, *nov. sp.* parasitic in the alimentary tract of *Pediculus vestimenti*, the Human Body Louse. *Proc. Royal Society*, *B*, vol. **84**.

E. Hindle (1912), What is the genus *Leptomonas* Kent? *Parasitology*, vol. **5**, nº 2.

Gh. Zotta (1912), Sur un Flagellé du type *Herpetomonas* chez *Pyrrhocoris apterus*. *Ann. Sc. de l'Université de Jassy*, t. **7**.

M. Robertson (1912), Notes on some Flagellate infections found in certain Hemiptera in Uganda. *Proc. Royal Society*, *B*, vol. **85**.

W. S. Patton (1912), Studies on the Flagellates of the genera *Herpetomonas*, etc., nº 1. The morphology and life History of *Herpetomonas culicis*, Novy, Mac Neal and Torrey. *Scientif. memoirs of Gov. of India*, Calcutta.

A. Alexeief (1913), Introduction à la revision de la famille *Herpetomonadidæ* [*Trypanosomidæ* Doflein (1911)]. *Arch. f. Protistenkunde*, **29**.

H. B. Fantham et Annie Porter (1913), *Herpetomonas Stratiomyiæ*, n. sp., a Flagellate parasite of the Flies, *Stratiomyia chameleon* and *S. potamida*, with remarks on the Biology of Horts. *Ann. of Tropical Med. and Parasit.*, vol. **7**, nº 4.

G. Franchini (1913), Nouvelle contribution à l'étude de *Hæmocystozoon brasiliense*. *Bull. Soc. Path. exotique*, t. **6**, n° 5.

III. — Sur le transmetteur de *L. Davidi* :

A. Lafont (1911), Sur la transmission du *Leptomonas Davidi* des Euphorbes par un Hémiptère *Nysius euphorbiæ*. *C. P. Soc. de Biol.*, 14 janvier.

G. Bouet et E. Roubaud (1911), Sur la présence au Dahomey et le mode de transmission du *Leptomonas Davidi* Lafont, Flagellé parasite des Euphorbiacées. *C. R. Soc. de Biol.*, 14 janvier.

J. Rodhain, C. Pons, F. Van den Branden et J. Becquaert (1913), *Leptomonas Davidi* et Trypanosamides non pathogènes d'insectes divers, in *Rapport sur les travaux de la mission scientifique du Katanga*, Bruxelles.

F. Mesnil (1913), Hémiptères des Euphorbes parasitées de *Leptomonas Davidi*. *Bull. Soc. Path. Exotique*, t. **6**, n° 5.

IV. — Sur la connexion possible entre la *Flagellose* et certaines *Zoonoses* :

H. B. Fantham (1915), Insect Flagellates and the evolution of disease, with remarks on the importance of comparative methods in the study of Protozoölogy. *Ann. of Tropical Medicine and Parasitology*, vol. **9**, n° 2.

EXPLICATION DES PLANCHES

Toutes les figures des planches ont été dessinées avec le même grossissement, au moyen du grand appareil à dessiner d'Abbe, obj. imm. hom. 1/12 et oc. 4 Zeiss. Seules, les figures 5 et 14 ont été dessinées avec l'oculaire 12.

PLANCHE XIII

a à *d*. — *Herpetomonas muscæ domesticæ* Burn.
1 à 3. — *Leptomonas Davidi*, formes du latex de *E. segetalis*.
4 à 28. — Formes du mesenteron de *Stenocephalus agilis*. Infection expérimentale de 3 jours.
23. — Formes en copulation?
29. — Forme géante du mesenteron de *Stenocephalus*. Infection naturelle.
30 à 35. — Mesenteron de *Stenocephalus*. Infection expérimentale de 8 jours.
36. — Kyste de la trompe de *Stenocephalus*. Infection naturelle.
37 et 38. — Formes kystiques du mesenteron de *Stenocephalus*. Infection naturelle.

PLANCHE XIV

Figures 1, 2 et 3. — Formes de *Stenocephalus* 9. Infection naturelle.
1. — Glande salivaire. Formes salivaires. Comparer avec les figures 30 à 35 de la planche I.
2. — Intestin postérieur.
3. — Rectum. Différentes formes parmi lesquelles un kyste.
4. — *Stenocephalus agilis* ♀.
5. — Mesenteron. *Stenocephalus* 8. Infection expérimentale de 4 jours.
6. — *Euphorbia segetalis*. Accidents primaires.
7. — Formes de *Leptomonas davidi* dans l'accident primaire.

Les figures 4 et 6 de cette planche ont été dessinées par Mlle Mamia Roque Gameiro, à laquelle nous voulons témoigner ici notre plus sincère gratitude.

ESSAIS D'INOCULATION DU PALUDISME AU CHIMPANZÉ

par F. MESNIL et E. ROUBAUD

(Avec la planche XV.)

L'homme est-il le seul mammifère capable de contracter le paludisme? En dehors de son intérêt purement scientifique, ce problème a aussi un intérêt pratique, car s'il existait dans la nature des animaux susceptibles de conserver le virus et de le repasser à l'homme par l'intermédiaire des moustiques, la prophylaxie du paludisme en subirait quelques modifications.

La question peut être abordée de deux façons : en examinant les affinités des *Plasmodium* trouvés chez les singes et les autres animaux avec les hématozoaires humains, ou bien en cherchant à inoculer aux animaux les *Plasmodium* de l'homme.

Depuis la mémorable découverte de Laveran, on a signalé, chez un grand nombre de Vertébrés, des infections naturelles produites par des parasites tellement voisins de ceux du paludisme qu'il convient de les classer dans le même genre *Plasmodium* (*Hæmamœba* Lav. *s. s.*). Tels sont les « *Proteosoma* » des Oiseaux, connus dès 1885. Tels sont aussi les parasites endoglobulaires pigmentés d'un nombre de mammifères qui va en croissant chaque jour.

On connaît, à l'heure actuelle, plusieurs espèces de *Plasmodium* parasites des Cheiroptères (chauves-souris) ; le *Pl. vassali* Lav. d'écureuils de l'Indochine ; le *Pl. brodeni* Rodh. et Coll. d'un insectivore, *Petrodromus tetragenus* ; le *Pl. cephalophi* d'une antilope, *Cephalophus grimmi*, et le *Pl. bubalis* du buffle de l'Inde. On connaît aussi plusieurs espèces de *Plasmodium* parasites des singes : ce sont les plus intéressants à considérer ici.

Il y a d'abord le *Pl. kochi* Lav., signalé par Koch en 1898 et décrit par Kossel chez divers singes d'Afrique. On a rapporté à

cette espèce unique, sans preuve décisive, les parasites trouvés chez les cynocéphales (g. *Papio*), les cercopithèques et les *Cercocebus*, et même ceux observés par Lühe dans des préparations de sang de chimpanzé rapportés du Cameroun par Ziemann.

En 1907, Halberstädter et Prowazek ont décrit deux espèces nouvelles, *Pl. pitheci*, trouvé chez l'orang-outang à Bornéo, et *Pl. inui* chez des macaques de la même île : *M. cynomolgus* et *nemestrinus*. Il y a des raisons de croire que c'est cette dernière espèce que, presque simultanément, M. Mayer décrivait sous le nom de *Pl. cynomolgi*. En tout cas, ces parasites des macaques ont été revus par plusieurs auteurs et ont donné lieu à des travaux intéressants.

En 1908, Gonder et von Berenberg-Gossler ont fait connaître le *Pl. brasilianum* d'un singe du Nouveau-Monde, *Brachyurus calvus*.

Enfin, tout récemment, Knowles, aux Indes, a décrit un *Pl. semnopitheci* qu'il a observé dans des conditions intéressantes que nous relaterons plus loin.

Tous ces parasites sont particulièrement instructifs à considérer en raison de la parenté de l'homme et des singes. La morphologie ne permet pas de décider à coup sûr si ces parasites constituent des espèces différentes les unes des autres et différentes des parasites humains : leur cycle évolutif est malheureusement inconnu ; on n'est même pas sûr qu'il s'accomplit chez le moustique.

Il convient donc, pour élucider le problème posé, de s'en rapporter à la méthode expérimentale proprement dite. En cherchant à réaliser des passages d'animal infecté à animaux sains de la même espèce ou d'espèces plus ou moins voisines, on doit pouvoir déterminer le champ d'action de l'espèce d'hématozoaire en question et établir ainsi les identifications possibles.

Les données recueillies dans cet ordre d'idées sont encore peu nombreuses. Il n'est pas démontré que le *Pl. kochi* soit le seul parasite des singes africains. En particulier, rien ne dit que le parasite du chimpanzé décrit par Lühe (1) appartienne à

(1) Lühe, in *Handb. der Tropenkrankh.*, 1re édit., t. 3, 1906, p. 223 et pl. VIII, figures 29-32.

cette espèce. Von Berenberg-Gossler (1), qui a observé l'infection chez des *Cercocebus fuliginosus* et des *Cercopithecus callitrichus* (« singes verts »), l'a reproduite expérimentalement chez d'autres *Cerc. fuliginosus*.

Le *Pl. pitheci* de l'orang-outang, inoculable à cette espèce, n'a pu l'être ni au gibbon, ni aux « singes inférieurs » (vraisemblablement macaques) (2).

Le champ d'action du *Pl. inui* seu *cynomolgi* est mieux déterminé, grâce surtout aux recherches de M. Leger et Bouilliez. Mayer (3) avait vu précédemment que le parasite du *Mac. cynomolgus* peut être inoculé avec succès aux *Mac. cynom.* et *rhesus*, « ainsi qu'aux cercopithèques ». Leger et Bouilliez (4) ont réussi, à l'Institut Pasteur, à infecter, par inoculation sous-cutanée de sang : 11 *Mac. cynomolgus*, 4 *M. sinicus*, 4 *M. rhesus*, 1 *M. nemestrinus*, — 1 *Cercopithecus callitrichus*, 2 *Cerc. patas*, 1 *C. cephus*, — 1 *Papio anubis*. Les résultats ont été positifs dès la première inoculation, sauf pour 2 *cynomolgus* qui n'ont été infectés qu'à la seconde inoculation. Etant données ces constatations, il y a des chances pour que le *Cercocebus fuliginosus*, dont un individu a été inoculé à trois reprises sans succès, soit réfractaire (5) et qu'il en soit de même du chimpanzé, 2 individus ayant été inoculés chacun une fois avec de fortes doses de sang bien parasité.

Si l'on ajoute, à cette dernière constatation, celle faite par Halberstädter et Prowazek, en 1907 (6), que l'orang-outang est réfractaire au même hématozoaire, on peut conclure que le *Pl. inui* n'étend pas son action aux singes anthropoïdes ni, selon toute vraisemblance, à l'homme. Il ne l'étend pas non plus aux mammifères quadrupèdes, pas même aux Lémuriens.

Ajoutons, pour être complets, que Vassal (7) a essayé sans

(1) Von Berenberg-Gossler. *Arch. f. Protistenk.*, t. **16**, 1909.

(2) Halberstaedter et von Prowazek. *Arb. a. d. Kaiserl. Gesund.*, t. **26**, 1907.

(3) M. Mayer *Arch. f. Protistenk.*, t. **12**, 1908, p. 314.

(4) M. Leger et Bouilliez. Ces *Annales*, t. **27**, 1913, p. 955.

(5) Ce fait serait à rapprocher de ceux constatés en trypanosomiases, pour lesquelles les *Cercocebus* — et aussi les *Papio* — sont réfractaires.

(6) *Loc. cit.*

(7) Vassal. Ces *Annales*, t. **21**, 1907, p. 851.

succès d'inoculer par voie veineuse son parasite des écureuils (*Pl. vassali*) à l'homme (1).

Du résumé que nous venons de donner, se dégage que, par la méthode détournée des *Plasmodium* animaux, on n'a pu recueillir aucun argument tendant à faire croire que les *Plasmodium* humains peuvent infecter d'autres espèces animales.

Voyons maintenant ce qu'a donné la méthode directe qui consiste à inoculer du sang humain parasité à des animaux divers. Pour apprécier les résultats, il convient d'abord de résumer les faits acquis en ce qui concerne l'inoculation de sang d'homme impaludé à homme sain.

Du grand nombre de travaux publiés à ce sujet (2), résulte que l'infection est généralement obtenue, surtout quand on utilise la voie veineuse ; mais la voie sous-cutanée a donné aussi, dans la majorité des cas, des résultats positifs. Les *Plasmodium* humains paraissent inoculables sous leurs diverses formes; pourtant, Elting (3), qui a fait une des études les plus documentées sur la question, a eu des insuccès dans trois cas où il a employé du sang qui renfermait *seulement* des corps en croissant et des corps ovalaires (malades traités préalablement par la quinine). Mais d'autres observations paraissent prouver que les corps en croissant peuvent reproduire le paludisme soit sous forme de corps en croissant soit autrement.

Le paludisme peut donc se transmettre facilement d'homme à homme par inoculation de sang.

Dès les premiers travaux sur le paludisme, on a, bien entendu, tenté d'infecter les diverses espèces animales. Disons donc que, en dehors des singes, les résultats ont été constamment négatifs, qu'on se soit adressé ou non aux espèces (mammifères et oiseaux) dont on connaît des infections naturelles à *Plasmodium*. Signalons en particulier les tentatives de Vassal avec les *Sciurus* d'Indochine, de Rodhain et Van den Branden avec les roussettes, *Cynonycteris straminea*, du Congo.

(1) On peut encore citer les essais d'infection de l'homme par les hématozoaires d'oiseaux; mais DI MATTEI (*Arch. f. Hyg.*, t. **22**, 1915, IV, p. 288) a opéré avec l'*Hæmoproteus* du pigeon, qui n'est pas un *Plasmodium*.

(2) Voir à ce sujet LAVERAN, *Traité du paludisme*, 2e édit., p. 136 ; — R. ROSS, *The prevention of Malaria*, pp. 66 et suiv.

(3) ELTING, *Zeitsch. f. klin. Med.*, t. **36**, 1898.

Pour les singes inférieurs, nous relèverons les essais négatifs de Richard, de Fischer, de Bein, d'Angelini (avec *Cynocephalus sphinx*), de di Mattei (avec un macaque), de R. Koch, de H. Soulié (avec des singes préalablement dératés) (1), de M. Mayer (avec *Mac. cynomolgus*) (2), celles toutes récentes de Knowles (macaques et *Semnopithecus entellus*) (3), enfin les recherches inédites de M. Leger avec des singes du Nouveau continent (*Midas midas* et *Ateles pentadactylus*).

L'essai d'infection au semnopithèque a produit un résultat curieux : sans doute du fait du choc opératoire, cette inoculation a fait sortir, en moins de vingt-quatre heures, une infection intense par un *Plasmodium* que Knowles considère, à juste titre, comme propre à ce singe et pour lequel il crée une espèce nouvelle.

Nous devons mentionner spécialement l'échec de Koch dans son essai d'infection des singes anthropoïdes. Aux Indes néerlandaises, Koch (4) a eu à sa disposition trois orangs-outangs et quatre gibbons (3 *Hylobates agilis* et 1 *H. syndactylus*). Malgré les injections répétées de sang de tierce bénigne comme de tierce maligne, aucun parasite n'a été reconnu à l'examen du sang des anthropoïdes. Koch conclut que l'homme est le seul réservoir de virus du paludisme.

Un point à retenir des expériences d'inoculation d'homme à homme est la durée d'incubation. D'après Mannaberg, elle serait pour la quarte de 13 jours 4, pour la tierce de onze jours, pour la pernicieuse de six jours et demi (schizontes) et de quatorze jours (croissants). D'après Bignami et Bastianelli, il faut compter trois à cinq jours pour la pernicieuse, dix à douze jours pour la tierce, onze à quinze jours pour la quarte (5).

Les chiffres moyens ne diffèrent pas beaucoup de ceux donnés par Billet (6) pour l'infection naturelle ; sur 31 cas qu'il a réunis, l'incubation (début des manifestations fébriles) a oscillé entre dix et quinze jours, minimum six jours, maximum vingt et vingt-trois jours.

(1) Voir Laveran. *Loc. cit.*, p. 140 et di Mattei, *Arch. f. Hyg.*, t. **22**, 1895.
(2) Mayer. *Loc. cit.*
(3) Knowles. *Indian Journ. of med. Res.*, t. **7**, 1919, p. 195.
(4) Koch. *Deutsche mediz. Woch.*, 1er février 1900, p. 88.
(5) Voir Ziemann. *Handb. der Tropenkrankh.*, 1re édit., t. **3**, 1906, p. 312.
(6) Billet. *Bull. méd. Algérie*, 15 juin 1904, p. 285.

Ces chiffres nous seront utiles pour l'interprétation de nos résultats.

* * *

De tout ce qui précède, ressort clairement qu'un *Plasmodium* déterminé ne s'attaque qu'à une seule espèce ou à un petit nombre d'espèces voisines ; l'extension la plus grande a été trouvée pour *Pl. inui* qui est infectant et en même temps pathogène pour des représentants divers de la grande famille de singes catarrhiniens des *Cercopithecidæ* comprenant macaques, cercopithèques et cynocéphales. Il était vraisemblable *a priori*, et l'expérimentation l'a confirmé, que les *Plasmodium* humains ne sont pas inoculables aux singes catarrhiniens inférieurs. Mais il restait à approfondir la question de la sensibilité des singes anthropoïdes, déjà amorcée par les travaux de R. Koch.

Nous avions à notre disposition, en 1917, un chimpanzé, depuis plusieurs années à l'Institut Pasteur, et nous avons pu nous procurer un second individu. D'autre part, le Service de la place de Paris, dirigé par le médecin principal Marchoux, nous envoyait à cette époque, pour diagnostic microbiologique, un grand nombre de soldats rapatriés de l'Armée d'Orient renfermant dans leur sang les divers types de parasites. Nous avons cru devoir profiter de ces circonstances favorables pour apporter notre contribution au problème posé. Dans une note préliminaire (1), nous avons fait connaître nos premières constatations. Nous donnons ici nos résultats complets avec documents à l'appui.

Pour ces expériences, le sang humain était recueilli à la veine du coude. 10 cent. cubes environ étaient prélevés et mélangés à volume égal d'eau physiologique citratée de façon à prévenir la coagulation. Dans le quart d'heure qui suivait, ce sang était injecté dans la veine du bras ou de la jambe du chimpanzé : Nous avons choisi la voie veineuse comme étant la plus sûre pour l'infection. Le même animal étant inoculé plusieurs fois, pour chaque réinoculation, la précaution était prise, afin d'éviter des accidents anaphylactiques possibles, d'injecter

(1) Mesnil et Roubaud. *C. R. Acad. Sciences*, t. **165**, 2 juillet 1917, p. 39.

d'abord une petite dose de sang citraté, puis, quelques minutes après, le reste du sang. Nous n'avons jamais eu le moindre accident.

Le sang de nos animaux était examiné journellement, soit en frottis, soit en goutte épaisse, après coloration appropriée. Dès que l'infection de notre premier chimpanzé a été reconnue, le sang a été examiné trois fois par jour. Pour ces longs et minutieux examens, nous avons eu le concours empressé des médecins-majors des troupes coloniales Vaillant, Bouilliez et Jouveau-Dubreuil, particulièrement rompus à ces recherches, et du médecin auxiliaire Marcel Thomas, qui, rapidement, était devenu très expert dans la recherche des hématozoaires.

Première série d'expériences.

Le Chimpanzé femelle Céline, appartenant à la ménagerie de l'Institut Pasteur depuis plusieurs années (au moins quatre ans), a été le premier sujet de nos expériences. L'animal, de taille moyenne, était alors en assez bon état de santé, sauf une légère paralysie du train postérieur. Poids : 9 kilogrammes. Nous avons réalisé avec ce singe des expériences d'inoculation de sang humain à *Pl. vivax*, et des expériences d'inoculation de *Pl. præcox* par piqûres d'Anophèle infecté. Voici la série des expériences réalisées avec cet animal.

Expériences d'inoculation du *Pl. vivax*.

Première inoculation. — Le 22 mai 1917, l'animal reçoit dans la veine du pli du coude environ 8 cent. cubes du sang du malade V..., dilué dans son volume d'eau physiologique citratée. Le malade a pris la veille au soir 0 gr. 50 de quinine, mais le sang renferme, avec des gamètes, des schizontes de *Pl. vivax* qui ne paraissent pas altérés.

L'animal est suivi avec soin du 23 mai au 6 juin. Les températures varient de 37° à 38°5. Aucun parasite n'est vu dans le sang.

Deuxième inoculation : Résultat positif. — Le 6 juin, le chimpanzé est soumis à une nouvelle inoculation. Il reçoit dans la veine, vingt-cinq minutes après la saignée, 8 à 9 cent. cubes de sang du malade P..., dilué dans son volume d'eau citratée. Les conditions sont plus favorables que la première fois : le malade donneur de virus n'a pas pris de quinine; il se trouve en plein accès, avec présence dans le sang de nombreux parasites de la tierce bénigne à tous stades, en particulier de rosaces. L'examen journalier du sang du chimpanzé, pratiqué avec beaucoup de soin, est négatif du 7 au

16 juin inclusivement. Le 18 juin, les premiers hématozoaires apparaissent dans le sang et l'animal, examiné tous les jours, se montre infecté jusqu'au 27. A partir de cette date, tous les examens sont désormais négatifs aussi bien sur frottis qu'en goutte épaisse. Nous donnons plus loin les caractères des formes rencontrées et la marche de l'infection.

Troisième inoculation. — Après trois semaines d'observation, l'animal ayant paru guéri de son infection, nous l'avons soumis le 17 juillet à une troisième inoculation de sang virulent. 10 cent. cubes de sang du malade B... (tierce bénigne, très nombreux schizontes) ont été inoculés dans la veine. Suivi régulièrement jusqu'au 15 août, le singe n'a plus présenté aucun parasite. Les températures dans le mois correspondant n'ont pas dépassé 37°7.

Expériences d'infection par *Pl. præcox* par piqûres d'Anophèles.

Le chimpanzé n'ayant plus présenté aucun parasite et paraissant définitivement guéri de son infection à *Pl. vivax*, nous avons tenté de l'infecter par le parasite de la tropicale en le faisant piquer par des Anophèles expérimentalement infectés. Le 17 septembre, le singe a été piqué par un premier Anophèle, *A. maculipennis*, nourri le 30 août auparavant sur un malade porteur de gamètes, et par un deuxième Anophèle infecté dans les mêmes conditions le 3 septembre. Ces deux moustiques examinés l'un quatre heures après la piqûre, l'autre sept jours plus tard, ont manifesté tous deux une infection massive des glandes salivaires par les sporozoïtes du *Plasmodium*.

Le chimpanzé, suivi régulièrement jusqu'au milieu d'octobre, n'a pas contracté d'infection apparente. Il est mort le 19 octobre.

A l'autopsie : lésions de pneumonie. Rien de particulier à la rate et au foie. Abcès osseux lombaire. Déformation des membres postérieurs. Décalcification générale, spécialement du crâne.

Deuxième série d'expériences.

Vers la fin de juin, nous avons pu nous procurer un jeune chimpanzé mâle récemment arrivé d'Afrique et très vigoureux malgré des atteintes de gale qui ont rétrocédé rapidement après traitement. Dès son arrivée, l'animal a été mis en surveillance pendant une vingtaine de jours. Il n'a jamais montré d'hématozoaires pouvant prêter à confusion avec les *Plasmodium* malariens (1). Nous avons répété sur ce singe des expériences analogues aux précédentes.

Expériences d'inoculation de sang humain parasité.

Première inoculation. Croissants seuls. — Le 17 juillet, l'animal qui pèse 7 kilogr. 750 est inoculé dans la veine du pli du coude avec 12 cent. cubes

(1) Il renfermait de rares microfilaires du type *Mf. perstans*, déjà plusieurs fois signalé chez le chimpanzé.

du sang du malade B..., dilué dans son volume d'eau physiologique citratée. Le sang renferme des croissants très nombreux sans schizontes. Le malade a pris environ une heure auparavant 25 centigr. de quinine. L'examen journalier du sang est négatif.

Deuxième inoculation. Croissants seuls. — Le 23 juillet, ayant eu à notre disposition un cas plus favorable (croissants nombreux), le chimpanzé est réinoculé avec une même dose de sang dilué du malade H... Ce malade n'a pas pris de quinine depuis dix jours; il n'a pas eu d'accès depuis un temps assez long.

Le 26 juillet, un croissant à peine modifié est vu dans le sang du singe. Tous les examens ultérieurs pratiqués d'une façon suivie jusqu'au 20 août sont négatifs. La température a constamment oscillé de 36°7 à 37°5, sauf un maximum de 38° le 24 juillet. A aucun moment, n'ont été vues de jeunes formes.

Troisième inoculation. Croissants seuls. — Le 23 octobre, le même chimpanzé est réinoculé. Il reçoit dans la veine du pli du coude 10 cent. cubes de sang citraté du malade D... (croissants nombreux, sans schizontes); 5 cent. cubes de la même dilution sont également donnés sous la peau.

Le singe ne s'infecte pas. Les températures prises du 13 septembre au 20 octobre oscillent entre 37° et 37°6. Aucun parasite n'a été vu dans le sang.

Quatrième inoculation. Croissants et jeunes schizontes. — Le 22 janvier, le même chimpanzé est réinoculé avec le sang d'un cas très favorable de tierce maligne en évolution (malade L... en cours d'accès à *Pl. præcox*, présentant, outre les croissants, de petites formes assez nombreuses). Le singe reçoit dans la veine 12 cent. cubes de sang citraté, 6 cent. cubes sont, en outre, donnés sous la peau.

Suivi jusqu'au 28 février, le singe ne s'infecte pas. Les températures ont constamment oscillé au voisinage de 37°. Aucun hématozoaire n'a été vu dans le sang.

Essai d'inoculation de *Pl. vivax*.

Première inoculation. — Ayant complètement échoué dans nos essais d'infection avec le *Pl. præcox*, nous avons alors essayé d'infecter notre animal à partir d'un cas favorable de tierce bénigne.

Le 28 février, le chimpanzé II reçoit dans la veine du pli du coude 15 cent. cubes de sang citraté du malade X... (tierce bénigne en évolution; schizontes de vingt-quatre, trente-six heures assez nombreux; gamètes). Suivi régulièrement jusqu'au 31 mars, le singe n'a jamais présenté de parasites.

Essai d'infection à *Pl. præcox* par piqûres de moustique infecté.

Outre ces essais d'infection par inoculation du sang virulent, nous avons également tenté d'infecter le chimpanzé par la voie naturelle du moustique.

Le 21 novembre, le singe a été soumis à la piqûre d'un *Anopheles maculipennis* qui avait été nourri le 30 août sur un porteur de croissants. Le moustique examiné le 25 décembre a été reconnu porteur de sporozoïtes. Le chimpanzé piqué n'a pas contracté d'infection.

Caractères de l'infection expérimentale chez le chimpanzé n° 1.

Il résulte de ces deux séries d'expériences que, seul, le premier chimpanzé a contracté une infection à *Pl. vivax* à la suite de l'inoculation intraveineuse de sang d'un paludéen en cours d'accès. L'infection réalisée chez notre premier chimpanzé, quoique de durée relativement brève, a été cependant très nette. Plusieurs générations de parasites ont été observées, avec cycle d'évolution régulier suivant le type tierce.

Le 18 juin, à 13 heures, les formes ont été vues pour la première fois dans le sang. Ce sont de petites formes annulaires, schizontes de trois à quatre heures, normaux, de *Pl. vivax*, à contour parfois régulièrement arrondi, mais le plus souvent irrégulier avec de légers prolongements pseudopodiques très nets. Le pigment est en général absent. Les hématies ne montrent pas encore de grains de Schüffner (Pl. XV, fig. 1, 2, 3).

Le 19 juin, de 15 à 21 heures, les schizontes présentent l'aspect général des schizontes de tierce bénigne de trente à trente-six heures. Le pigment est très fin et peu abondant. Le corps chromatique apparaît déjà très souvent divisé en deux éléments irréguliers. Des grains de Schüffner très fins sont nettement visibles à la surface des hématies qui sont faiblement hypertrophiées (fig. 4-5). Quelques rares éléments à pigment plus abondant, à contour arrondi et corps protoplasmique plus fortement colorable, peuvent être interprétés comme des gamètes jeunes.

Le 20, à 13 heures, réapparaissent de jeunes schizontes annulaires, incontestablement de nouvelle génération bien que les stades de schizogonie correspondants n'aient pas été décelés avec certitude. Le 21, on assiste à l'accroissement, d'ailleurs assez irrégulier, de cette nouvelle génération de parasites. On trouve, en effet, à 18 heures, à côté de petites formes annulaires parasitant des hématies à peine pourvues de granulations de Schüffner (fig. 6) des éléments plus âgés, hémogrégariniformes (fig. 7, 8), et jusqu'à de grands schizontes dont le corps chromatique est souvent plus ou moins fragmenté (fig. 9, 11). A noter également, dans cette génération comme dans la précédente, la faible abondance des granulations mélaniques.

C'est à cette date que l'infection sanguine a présenté son maximum. Les formes sont assez nombreuses, et, en certains endroits des préparations, on peut rencontrer jusqu'à un parasite par champ d'immersion.

Le 22 au matin (5 h. 30), les parasites montrent pour la plupart des modifications schizogoniques (fig. 12, 16) du corps chromatique qui est fragmenté en plusieurs éléments irréguliers dont le nombre varie de 2 à 4 au maximum. Nous n'avons pu observer de rosace typique. Mais dans l'après-midi, à 15 heures, apparaissent d'assez nombreux petits schizontes de troisième génération; certains d'entre d'eux présentent encore des contours arrondis, normaux; mais beaucoup sont plus ou moins étirés, piriformes ou virgulaires, tandis que des signes de dégénérescence incontestables apparaissent chez certains autres (fig. 19, 20) dont le corps chromatique se résoud en granules arrondis ou en filaments grêles.

Le 23, on assiste à l'accroissement d'une partie des schizontes de cette génération; à 10 heures, on trouve des éléments hémogrégariniformes présentant parfois une division précoce par étirement du corps chromatique; à 18 heures (fig. 22), des schizontes plus âgés, encore sensiblement normaux, mais les formes sont devenues plus rares que les jours précédents.

Le 24, à 5 h. 30, on retrouve encore chez les schizontes une fragmentation irrégulière du corps chromatique indiquant un début typique de schizogonie (fig. 24); à 14 heures, de jeunes schizontes annulaires (fig. 23), correspondant à une quatrième génération, sont à nouveau visibles, mais en petit nombre, associés à quelques schizontes âgés.

Le 25, nous n'avons pu déceler que quelques schizontes de dix-huit heures; c'est le 26 que les parasites ont fait leur apparition dernière. De très rares schizontes ont encore été visibles en goutte épaisse, ainsi qu'un élément particulier où l'on reconnait assez nettement cinq masses chromatiques irrégulières, inégales, et pouvant être interprétées comme résultant d'une fragmentation schizogonique atypique (fig. 25).

A partir du 27, aucun parasite n'a plus été vu dans le sang, ni dans les frottis, ni en gouttes épaisses.

Ainsi, pendant la période de neuf jours, au cours de laquelle les hématozoaires ont constamment été visibles, quatre générations successives de parasites ont pu être constatées nettement. Il est à remarquer qu'à aucun moment de l'infection nous n'avons pu déceler de rosaces typiques. Les stades de division les plus avancés qu'il nous ait été donné de constater ne comportaient pas plus de trois à quatre masses chromatiques irrégulièrement disposées, sans délimitation nette encore de corps protoplasmique à leur contact, et sans constitution du reliquat pigmentaire (fig. 14-16). Les stades les plus avancés nous ont échappé, sans doute parce que leur apparition essentiellement fugace ne coïncidait pas avec le moment des prises de sang; il est à croire que le nombre des mérozoïtes produits n'a jamais dépassé de quatre à cinq. C'est par la réduction atypique des stades schizogoniques que ces parasites d'inoculation peuvent être surtout différenciés des parasites normaux du sang de l'homme. Il n'est pas sans intérêt de leur comparer les stades schizogoniques figurés par Halberstädter et Prowazek (1) pour le *Plasmodium* de l'Orang (*Pl. pitheci*). Malgré les différences générales, on trouve aussi, pour certains stades de ce parasite, des divisions irrégulières de la masse chromatique en un petit nombre d'éléments, avec absence de masse pigmentaire centrale, comme c'est le cas pour le *Pl. vivax* évo-

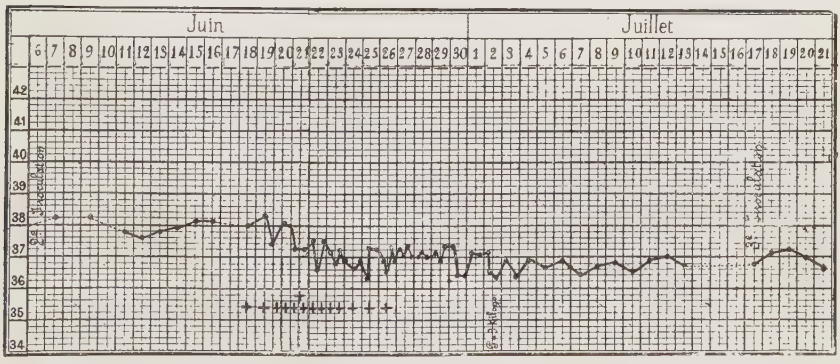
(1) *Loc. cit.*

luant à la suite d'inoculation expérimentale chez notre chimpanzé.

On pourrait à ce sujet discuter la réalité de notre infection expérimentale. Mais si l'on veut bien reprendre le détail des expériences et des observations exposées plus haut, on verra qu'à ce sujet le doute n'est pas possible. Jamais le chimpanzé avant l'expérience, ni après la date du 28 juin jusqu'à sa mort, n'a présenté d'hématozoaires. Si l'on élimine la première inoculation dont les conditions de réalisation n'ont pas été parfaites, les formes étant relativement rares et se trouvant sous l'influence de la quinine, on voit que l'infection s'est manifestée douze jours après la deuxième inoculation. Or nous avons vu plus haut que ce chiffre de douze jours apparaît comme un délai courant d'incubation pour les inoculations de sang virulent de tierce bénigne chez l'homme. Il est possible que la première inoculation, en déterminant la production d'hémolysines pour le sang humain, ait favorisé les résultats de la seconde.

Enfin l'infection, quoique de durée très brève, a parcouru un cycle régulier, avec décroissance progressive du nombre et dégénérescence des parasites à partir du 21. La guérison a été spontanée et l'animal paraît avoir acquis l'immunité pour une inoculation suivante.

A aucun moment de son infection, le singe n'a présenté de réaction fébrile marquée. Du 23 mai, lendemain de la première



inoculation, au 6 juin, date de la seconde, les températures se sont maintenues constamment un peu au-dessus de la normale, oscillant entre 37 et 38,3 ; du 6 au 18 juin, date de la première

constatation des parasites dans le sang périphérique, le tracé se maintient encore à peu près dans les mêmes conditions ; au-dessus de la normale, on note un minimum de 37,6 le 12, un maximum de 38,3 les 7 et 9 juin, de 37,8 à 37,9 du 11 au 14, de 38 à 38,1 du 15 au 18.

Au cours de la poussée parasitaire, au lieu de constater une ascension thermique, les températures sont plutôt inférieures en général à celles des semaines précédentes ; elles oscillent irrégulièrement de 36,3 à 38,3. Pendant la période qui va du 28 juin au 21 juillet, elles ont à peu près regagné la normale. Il y a donc eu, en somme, décroissance lente du tracé thermique depuis la période d'inoculation, sans rien de particulier pendant la période d'infection, comme on peut le voir par le graphique ci-avant.

Résumé et conclusions.

Des deux animaux que nous avons mis en expérience, l'un, chimpanzé femelle, depuis plusieurs années à l'Institut Pasteur, a contracté une infection légère, fugace, mais incontestable, à *Pl. vivax* inoculé par la voie intraveineuse, en partant du sang d'un paludéen en cours d'accès. Réinoculé vingt jours après la disparition des parasites, le singe ne s'est pas réinfecté.

Le deuxième chimpanzé, mâle jeune, récemment importé en France, soumis à une inoculation analogue, n'a pas contracté d'infection.

L'inoculation intraveineuse, au chimpanzé mâle, de sang humain renfermant tantôt uniquement des croissants, tantôt des croissants et des jeunes schizontes de la tropicale, n'a pas été suivie d'infection. Nous avons pu toutefois noter la persistance des croissants, dans le sang circulant de l'animal inoculé, pendant trois jours.

Enfin les deux chimpanzés, piqués par des Anophèles infectés par le *Pl. præcox*, ne se sont infectés ni l'un ni l'autre.

Il serait certes difficile de conclure de ces faits à la sensibilité réelle du chimpanzé à l'égard du paludisme humain, mais notre expérience positive permet cependant d'affirmer que ce type de singes présente un certain degré de sensibilité. Pour la première fois, on a pu constater la multiplication et le maintien

pendant plusieurs générations, dans un organisme animal, des *Plasmodium* du paludisme humain.

Le fait, s'il n'a pas d'importance au point de vue de la conservation possible du virus paludéen dans la nature, n'en offre pas moins un intérêt incontestable au point de vue biologique. Il montre que les chimpanzés se trouvent à la limite de la résistance animale à une infection considérée jusqu'ici comme strictement humaine; c'est donc une donnée nouvelle qui vient s'ajouter à l'ensemble des caractères qui rapprochent si étroitement ces anthropoïdes de l'homme.

On a souvent fait état de ces affinités en pathologie expérimentale. Notre expérience est en faveur de cette manière de voir.

EXPLICATION DE LA PLANCHE XV

FIGURES 1-3. — Jeunes schizontes du 18 juin, 14 heures.
— 4-5. — Schizontes du 19 juin, 15 heures. — Fig. 5 : Division précoce du noyau.
— 6-11. — Formes de deuxième génération, 21 juin, 18 heures, montrant l'accroissement progressif des schizontes (6-9) et le début de la division du corps chromatique (10-11).
— 12-16. — Formes du 22 juin, 5 h. 30. Début de la schizogonie. Fragmentation du corps chromatique en 2 à 3 éléments.
— 17-20. — Jeunes schizontes de nouvelle génération, 22 juin, 15 heures. Etirement atypique (17-18) et dégénérescence (19-20).
— 21. — Jeune schizonte du 22 juin, 18 heures, sensiblement normal.
— 22. — Schizonte du 23 juin, 18 heures.
— 23. — Forme de schizogonie du 24 juin, 5 h. 30, montrant 4 masses chromatiques irrégulières.
— 24. — Jeune schizonte de nouvelle génération du 24 juin, 14 heures. Division précoce du corps chromatique.
— 25. — Elément atypique du 26 juin montrant une fragmentation anormale et irrégulière du corps chromatique et du cytoplasme.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette. — 8615.

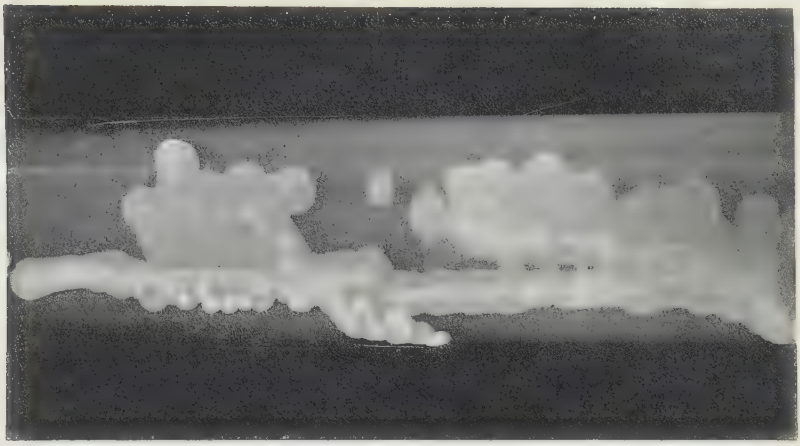


Fig. 1 Gr = 1,5/1

Fig. 2

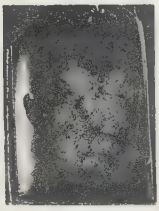


Fig. 3

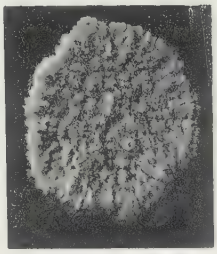


Fig. 4

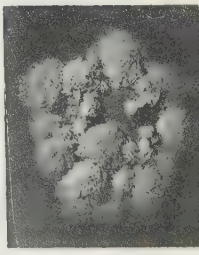


Fig. 5
Gr = 1,1

Fig. 6 Gr = 1,5/1

IMP. CATALA FRÈRES, P

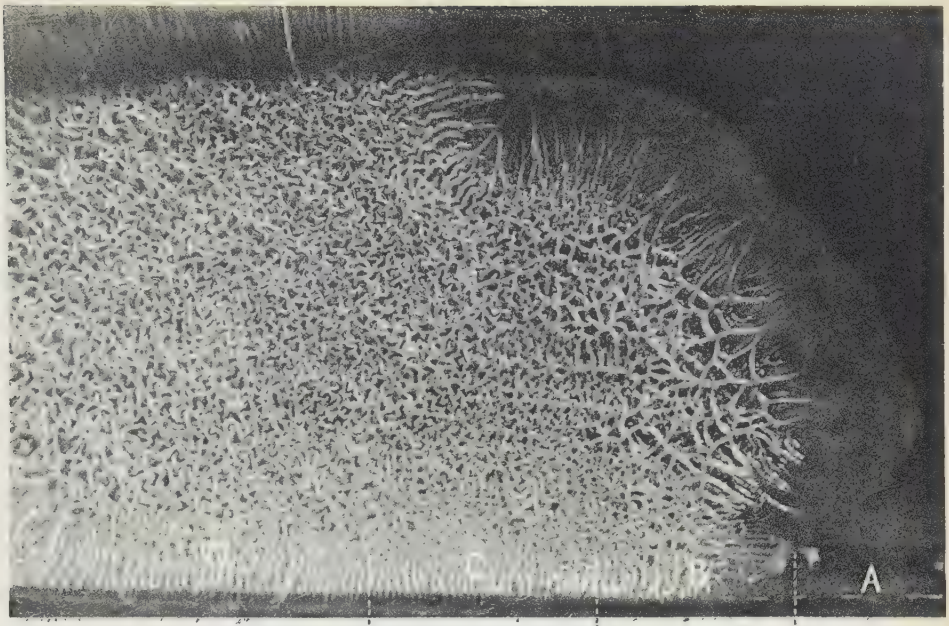


Fig. 7 Gr = 5/1

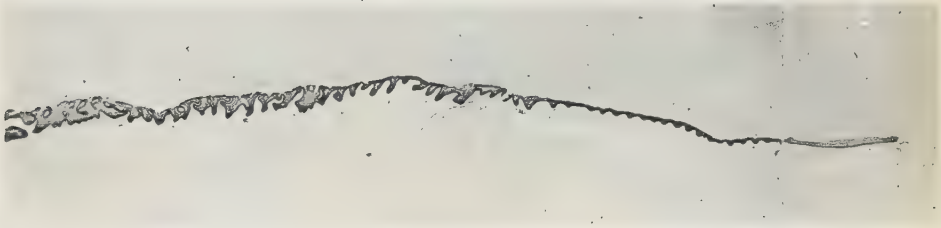


Fig. 8 Gr = 5/1

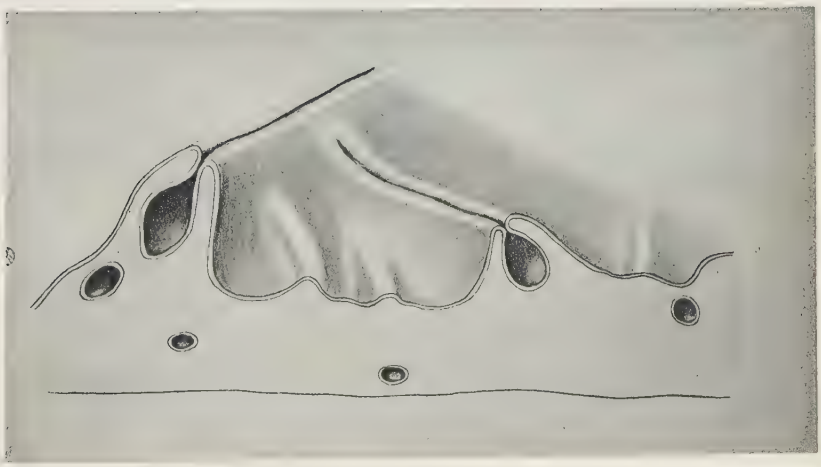


Fig. 9 Schématique

IMP. CATALA FRÈRES, PARIS

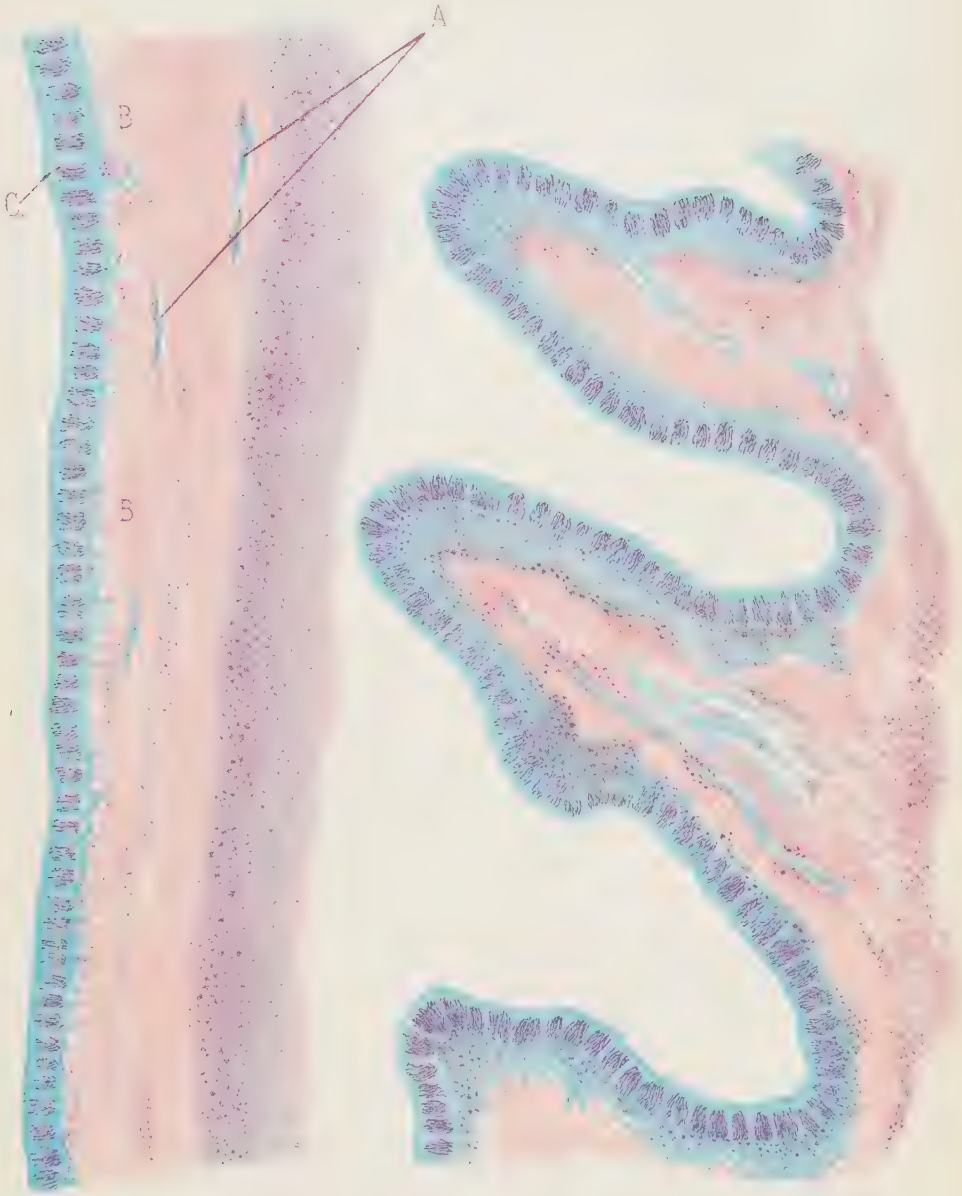


Fig. 10 Gr. 640/1 Fig. 11

E. Budin del

E. Budin et Constantin, lith.

Imp. L. Lafontaine.

Fig. 12
Gr. 640/1

E. Burin del

Fig. 13

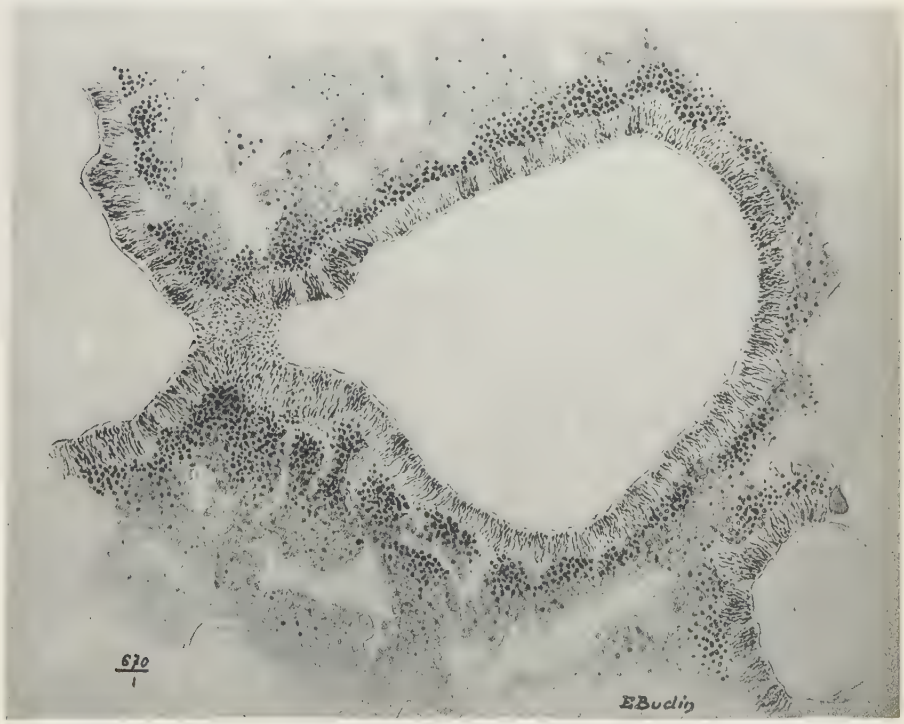


Fig. 14

Fig. 15

Fig. 16

MP. CATALA FRÈRES, PARIS

Fig. 17
Gr = 110 1

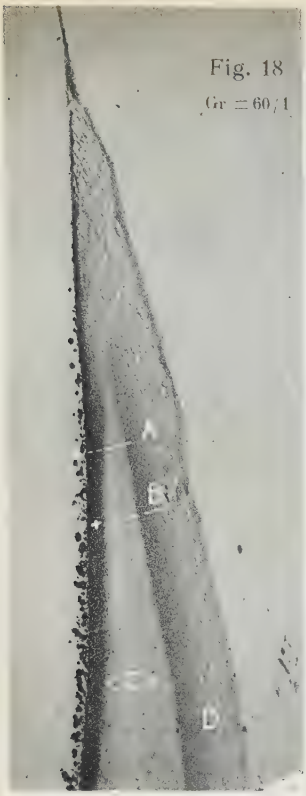


Fig. 18
Gr = 60/1

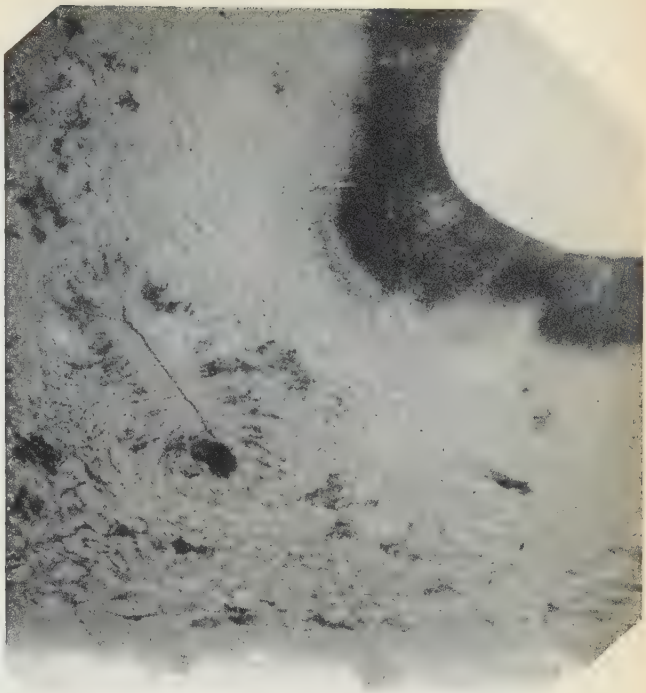


Fig. 20 Gr = 1000/1

Fig. 19 Gr = 60·1

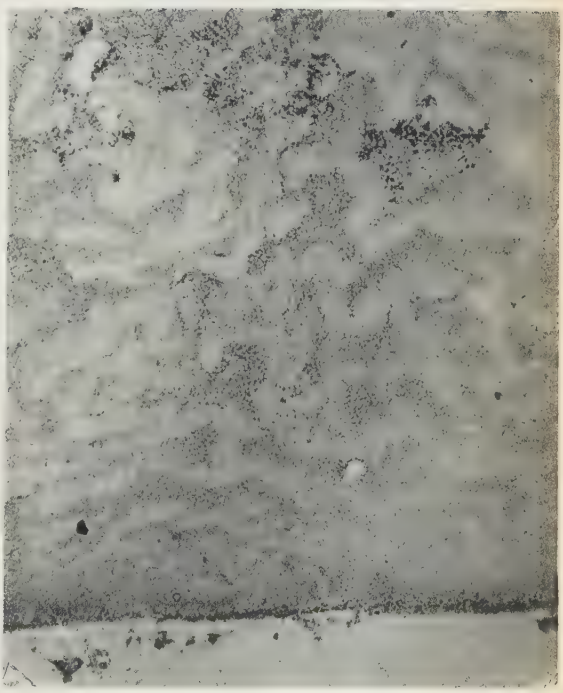


Fig. 21 Gr = 110/1

IMP. CATALA FRÈRES, PARIS.

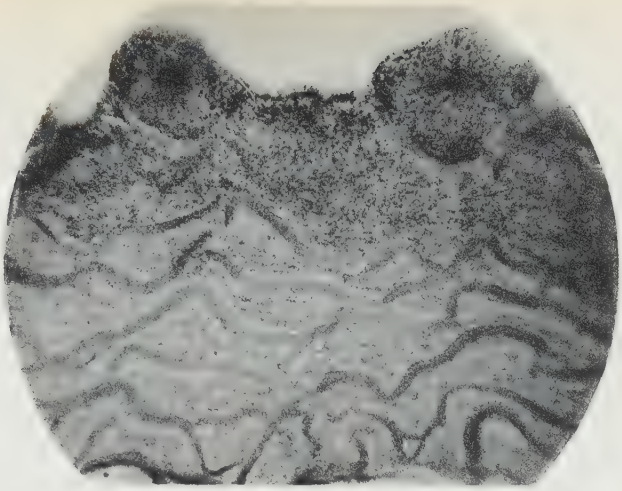


Fig. 22 Gr = 100/1

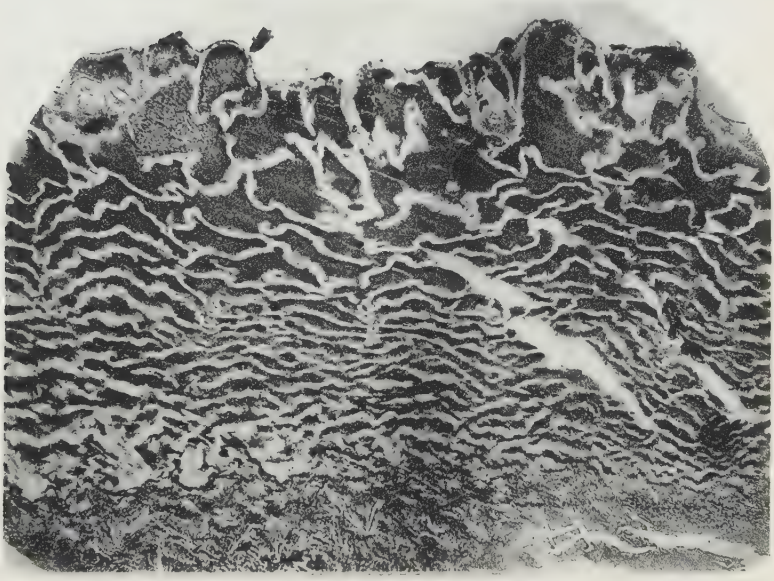


Fig. 23 Gr = 80/1

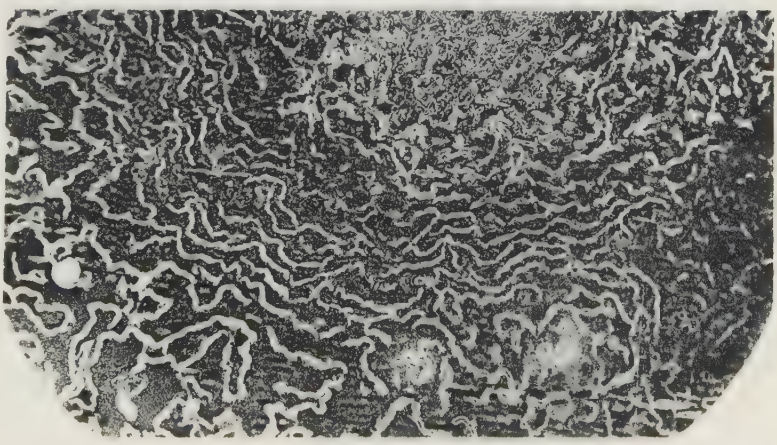


Fig. 24 Gr = 80/1

IMP. CATALA FRÈRES, PARIS

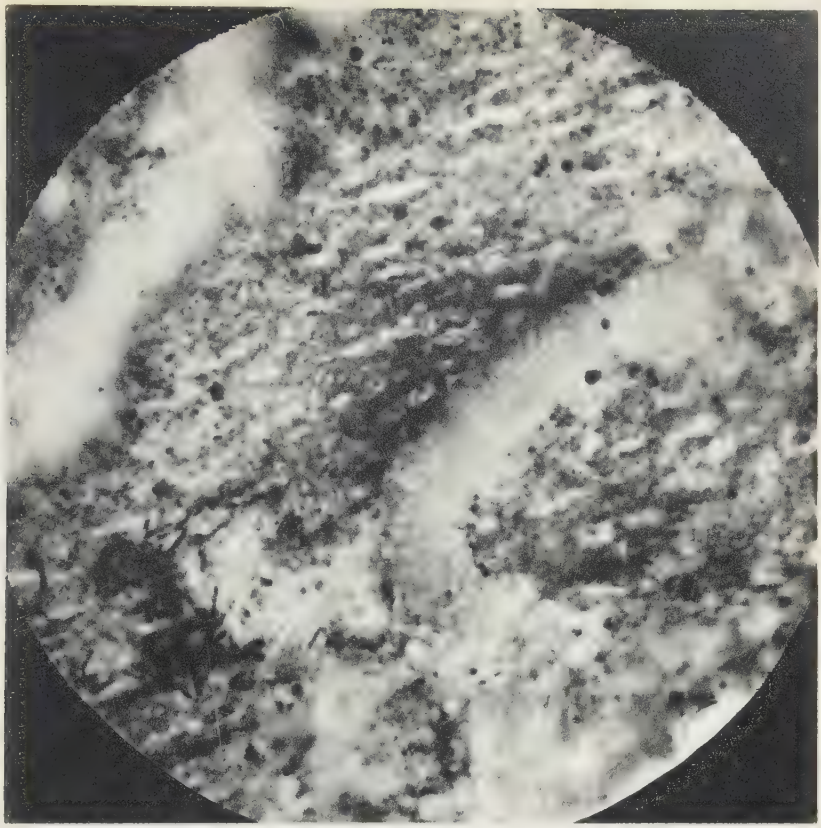
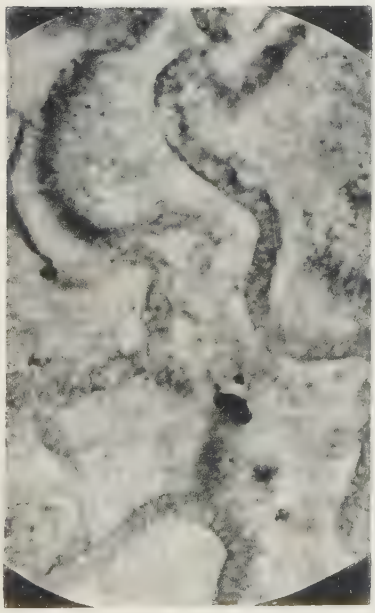
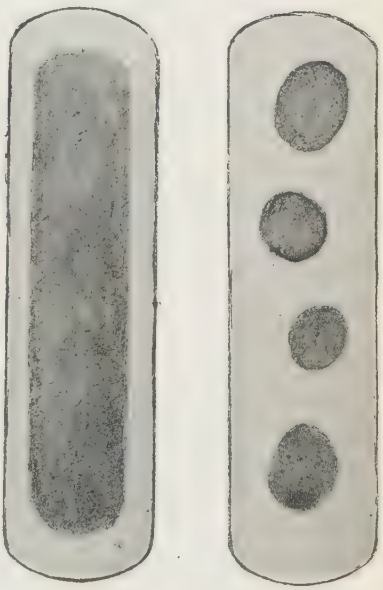


Fig. 25 Gr = 1500/1



Gr = 700/1 Fig. 26



A Fig. 27 B

Schématique

IMP. CATALA FRÈRES, PARIS

E Budin del.
E.Budin et Constantin lith.

Gr 325/1

Imp L Lafontaine

C. França del.

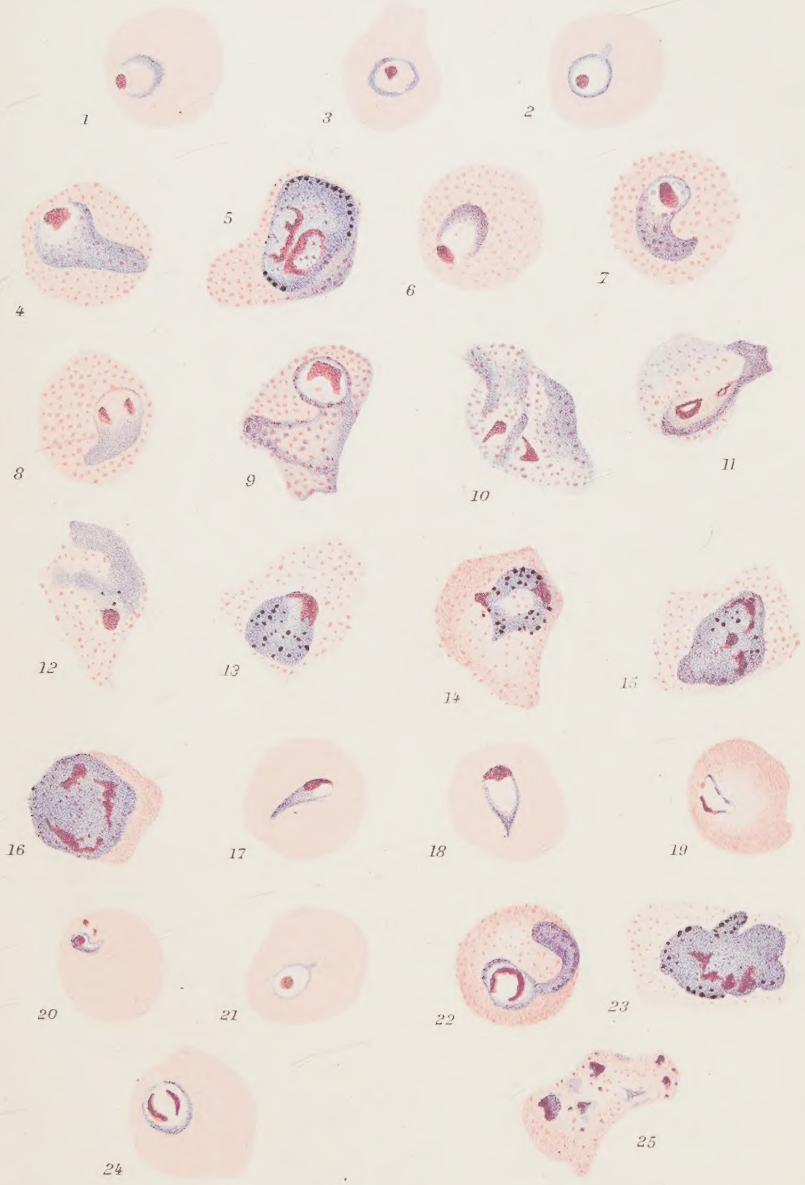
E.Budin et Constantin, lith.

Imp L.Lafontaine.

C. França del.

E. Budin et Constantin, lith.

Imp. L. Lafontaine.



Boisgontier del.

Imp. L. Lafontaine.